Experimentelle Untersuchungen

über das

Conserviren von Fisch und Fleisch

mit Salzen.

Akademische Abhandlung,

welche zur

Erlangung der Medicinischen Doctorwürde

mit Zustimmung der

Medicinischen Facultät der Universität zu Upsala

Mittwoch 2 Mai

am

~~Samstag~~, den ~~28. April~~ 1900, vormittags um 10 Uhr, im Hörsaal No. IV

öffentlich vertheidigt wird

von

Alfred Pettersson

Med. Lic.

München.

Druck von R. Oldenbourg.

1900.

Experimentelle Untersuchungen

über das

Conserviren von Fisch und Fleisch

mit Salzen.

Akademische Abhandlung,

welche zur

Erlangung der Medicinischen Doctorwürde

mit Zustimmung der

Medicinischen Facultät der Universität zu Upsala

am

~~Samstag~~, den ~~28. April~~ 1900, vormittags um 10 Uhr, im Hörsaal No. IV

öffentlich vertheidigt wird

von

Alfred Pettersson

Med. Lic.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

München.

Druck von R. Oldenbourg.

1900.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548928_0111

Experimentelle Untersuchungen über das Conserviren von Fisch und Fleisch mit Salzen.

I. Geschichtliches.

Im allgemeinen sind die meisten Nahrungsmittel, die eine grössere Menge Wassers enthalten, einer Zerstörung durch die Thätigkeit von Mikroorganismen unterworfen, insofern sie nicht dagegen auf eine oder die andere Weise geschützt werden können. Das gewöhnlichste Mittel, das zu diesem Zwecke benützt wird, ist Kochsalz. Der Brauch, Fleisch einzusalzen, ist wohl uralt, und der Name dessen, welcher zum ersten Male davon Gebrauch machte, ist nicht bewahrt worden. Wahrscheinlich hat auch die Erkenntnis der conservirenden Eigenschaften des Kochsalzes für Nahrungsmittel zu dessen Verwendung als Antisepticum bei der Wundbehandlung bei den alten Athenern den Anlass gegeben[1]). Als Erfinder einer verbesserten Methode des Häringseinsalzens wird ein Fischer zu Biervliet in Flandern, Willem Beukelsz (oder Bökel), gestorben 1397, genannt. Von seinem Namen leitet man das Wort pökeln und Bückling[2]) ab.

1) Anagnostakis, La méthode antiseptique chez les anciens Athènes, 1889, cit. nach de Freytag.

2) Brockhaus, Conversationslexikon, 1892, Bd. III, S. 248.

Das Kochsalz erfreute sich auch seiner antifermentativen Eigenschaften wegen eines grossen Rufes, bis in den letzten Jahrzehnten die bacteriologischen Forschungen die früheren Ansichten veränderten. Es fehlen aber systematischen Untersuchungen über seine fäulnishemmenden Eigenschaften, und im wesentlichen beschränken sich die Angaben auf seinen Einfluss gegen pathogene Organismen. Koch[1]) hat zuerst die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, dass Kochsalz auch in relativ concentrirten Lösungen den Bacterien sehr wenig schädlich ist. Doch wurde bei einer Verdünnung 1:64 das Wachsthum des Milzbrandbacillus noch verlangsamt.

Peuch[2]) fand 1887, dass ein Schinken eines milzbrandkranken Thieres 14 Tage nach dem Einsalzen noch entwickelungsfähige Keime enthielt. Nach $1^1/_2$ Monaten aber war der aus dem Schinken ausgepresste Saft für Kaninchen nicht mehr infectiös. Bei Desinfectionsversuchen mit Eitercoccen wurde Martens[3]) von dem Mangel desinficirender Wirkung verschiedener Körper, unter anderen des Kochsalzes, überrascht.

In Betreff der Einwirkung concentrirter Salzlösungen auf krankheitserregende Bacterien hat de Freytag[4]) nachgewiesen, dass bei Zimmertemperatur der Typhusbacillus, der Erreger der Säugethiertuberculose und der Schweinerothlaufbacillus in solchen Lösungen nach bezw. 2, 3 und selbst 5 Monaten lebensfähig und virulent waren. Die Milzbrandbacillen wurden in eingesalzenen Organen binnen 2 Stunden getödtet, und die höchste Concentration, bei der sie das Leben behielten, war 7%. Was tuberculös veränderte Organe von Schlachtthieren angeht, so wurde, im Gegensatz zu der Angabe Galtier's[5]), die Infections-

1) Koch, R., Ueber Desinfection. Mittheilungen a. d. kais. Ges.-Amte, 1881, Bd. I, S. 273.

2) Peuch, Compt. rend. de l'acad. des sc. de Paris, T. CV, 1887, S. 285.

3) Martens, G., Beiträge zur Kenntnis der Antiseptica. Virchow's Archiv, Bd. 112, S. 369.

4) Freytag, de, C. J., Ueber die Einwirkung concentrirter Kochsalzlösungen auf Bacterien. Archiv f. Hygiene, Bd. XI, 1890.

5) Galtier, Congr. p. l'étude de la tuberculose. Compt. rend. et mém., 1887, cit. nach Freytag.

möglichkeit durch ein 3 Monate lang dauerndes Einsalzen durchaus nicht aufgehoben.

Petri[1]) hat den Einfluss des Kochsalzes auf den Schweinerothlaufbacillus untersucht und gefunden, dass dieser, an Seidenfädchen angetrocknet, bei einem Salzgehalte von 23,5% nebst ein wenig Zucker und Salpeter zwar getödtet wurde, aber erst nach 26 Tagen, und dass er im Pökelfleisch noch nach 30 Tagen lebenskräftig und virulent war.

Bei Untersuchungen über den Bacteriengehalt der Butter fand Lafar[2]) ein Stäbchen, das bei 10% Kochsalz noch nicht getödtet wurde.

In Wurstsorten mit viel Wasser, die schnell zersetzt werden, fand Serafini[3]) zwischen 2,2 bis 3,5% Kochsalz, in länger haltbaren, wasserärmeren 4,5 bis 8,1%. Nach ihm ist »Kochsalz kein Desinfectionsmittel im wahren Sinne des Wortes«. Durch wiederholte Untersuchungen hat er sich überzeugt, dass Kochsalz nicht einmal in der Menge von 8% die Entwickelung von Mikroorganismen auf festen Nährsubstraten verhindert. Es verzögert aber die Entwickelung, und diese Verzögerung macht sich auch in bemerkenswerther Weise bei Nährsubstraten geltend, welche nicht mehr als 5% Kochsalz enthalten, besonders dann, wenn sie bei Zimmerwärme gehalten werden. Kochsalz ist sonach unmöglich allein das wirkliche Agens der Wurstconservirung; letztere hängt vielmehr hauptsächlich von dem schwächeren oder stärkeren Trocknen des Fleisches ab. Dadurch, dass das Kochsalz die rasche Entwickelung und Lebensthätigkeit der Bacterien hemmt, ermöglicht es das Eintreten der Trocknung, welche hauptsächlich und zuvörderst die Conservirung bedingt.

Auch Silberschmiedt[4]) ist zufolge eines Falles von Fleischvergiftung, wobei auch das Pökelfleisch von dem krank

1) Petri, R. J., Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amte, Bd. VI.

2) Lafar, F., Bacteriologische Studien über Butter. Archiv f. Hygiene, Bd. XIII.

3) Serafini, S., Chemisch-bacteriologische Analysen einiger Wurstwaaren. Archiv f. Hygiene, Bd. XIII, 1891.

4) Silberschmiedt, W., Ueber eine Fleischvergiftung. Correspondenzblatt f. Schweizer Aerzte, 1896, S. 234.

gewesenen Thiere untersucht wurde, zu der Auffassung gekommen, dass das Einsalzen keineswegs im Stande sei, auch nur wenig widerstandsfähige, sporenfreie Mikroorganismen zu vernichten. Er ist vielmehr geneigt, anzunehmen, dass die in dem infectiösen Fleische vorhandenen Bacterien, besonders in dickeren Stücken, während dieses Processes sich weiter vermehren können.

Wehmer[1]) hat nachgewiesen, dass Häringslake, deren Salzgehalt er zu 23 bis 24% bestimmte, keineswegs steril, sondern im Gegentheil reich an lebensfähigen Organismen ist. Er hat daraus eine Hefe isolirt, die, wenn auch etwas langsamer, noch bei einem Gehalte des Nährbodens von 15% Kochsalz fortkam. Ihren Platz in jetzigem System lässt er offen. Er scheint auch über die Sporenbildung derselben keine Versuche angestellt zu haben. Die Zahl der Hefezellen im Cubikcentimeter wird auf ungefähr 60000 geschätzt. Eine Salzmenge von 3 bis 5% der Würze zugesetzt, übte keinen hemmenden Einfluss, und erst bei 15% war eine deutliche Verzögerung des Wachsthums festzustellen. In Betreff der Herkunft der Salzhefe stellt er drei Möglichkeiten auf: Luftinfection, Verunreinigung von Geräthschaften und Gefässen, Ursprung von Meereswasser, bezw. von rohem Fische selbst. Dieser letzten Annahme scheint er sich am meisten zuzuneigen, zumal das Vorkommen von Sprosspilzen im Meereswasser ein nahezu constantes zu sein scheint. Ob die Hefe in der Lake sich wirklich vermehre, lässt er unentschieden und schliesst auch die Möglichkeit nicht aus, dass sie in dieser grossen Menge an oder im Fische schon beim Einpökeln gewesen sein könne. Ueber die chemischen Leistungen dieser Hefe wird fast nichts erwähnt.

Ueber das Pökeln äussert Lafar[2]) in seiner 1897 erschienenen technischen Mykologie: »Bei strengerer Prüfung dieses Verfahrens ergiebt sich, dass es eigentlich nur die wasserbindende Eigenschaft des Kochsalzes ist, welche hier ins Spiel kommt,

1) Wehmer, C., Zur Bacteriologie und Chemie der Häringslake, C.-B., II. Abth., Bd. III.

2) Lafar, F., Technische Mykologie, Jena 1897, S. 173.

die ja nichts weiter vermag als das Eine, nämlich bei den dem Fleische aufsitzenden oder später darauffallenden Keimen kräftige Plasmolyse zu erregen und dieselben so an der Vermehrung zu hindern. Ein sicheres Abtödten der Keime, insbesondere der Krankheitserreger, ist dadurch nicht zu erreichen.«

Ganz kürzlich hat Stadler[1]) die bei den Fleischvergiftungen wirksamen Bacterien und einige andere Organismen zu einer neuen Untersuchung herangezogen, um zu bestimmen, ob diese durch concentrirte Kochsalzlösungen sich vernichten lassen. Die Beobachtungszeit wurde auf 6 Wochen ausgedehnt und während dieser Zeit wurden nur Bacillus enteritidis, Bacillus morbificans bovis und ein Stamm von Bacillus coli getödtet und zwar nach bezw. $4^1/_2$, 3 und 2 Wochen.

Weiter hat Stadler die Frage zu beantworten versucht, ob in dem gesalzenen Fleische, das gewöhnlich in verdünnten Salzlösungen aufbewahrt wird, ein Wachsthum stattfinden kann. Deshalb untersuchte er die Vermehrungsfähigkeit der Fleischvergiftungsbacterien in Bouillon mit verschiedenen Mengen Kochsalz. Dabei hat er gefunden, dass bei einer Kochsalzconcentration von 10% eine Entwickelung von Bacillus morbificans bovis und Proteus vulgaris nicht mehr stattfindet, und dass 8% Kochsalz genügen, um die Entwickelung von Bacterium coli und Bacterium enteritidis zu hemmen. Nach van Ermengem's[2]) Angabe ist das Wachsthum des Bacillus botulinus im Schweinefleisch schon bei 6% Kochsalz sistirt.

Daraus zieht er die Schlussfolgerung, »dass ordnungsgemässes Pökeln dem Fleische während der Dauer des Pökelprocesses einen Schutz gegen von aussen eindringende Bacterien gewährt, da eine Entwickelung solcher in der starken Salzlake ausgeschlossen ist. Weiterhin wird eine Vermehrung von Bacterien, die sich vor der Procedur bereits an der Oberfläche

1) Stadler, E., Ueber die Einwirkung von Kochsalz auf Bacterien, die bei den sog. Fleischvergiftungen eine Rolle spielen. Archiv f. Hygiene, Bd. XXXV, 1899.

2) Ermengem, E. van, Ueber einen anaëroben Bacillus. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 26, 1897, S. 44.

des Fleisches befanden, durch das Pökeln verhütet. Es muss aber, wenn man völlige Sicherheit dafür haben will, dass keine Bacterienentwickelung stattfindet, der Kochsalzgehalt der Pökellake 10% sein, da bei einem niedrigeren Procentsatz die Gefahr einer Vermehrung der Keime nicht ausgeschlossen ist«.

Zum Schlusse erwähnt Stadler a. a. O., »dass es eine ganze Reihe von Bacterien gebe, die sich noch bei einem hohen Kochsalzgehalt des Nährbodens nicht nur lange Zeit lebensfähig erhalten, sondern sogar eine kräftige Entwickelung zeigen.« Solche Bacterien und Hefen sollen im Forster'schen Institute untersucht worden sein, ohne dass die Resultate bisher veröffentlicht sind.

Aus dem Vorstehenden geht hervor, dass alle diese Untersuchungen über das Verhalten der Bacterien gegen das Kochsalz mit einer Ausnahme lediglich die Frage behandeln, ob es eine vernichtende Wirkung auf einige bestimmte, meistens pathogene Organismen übt, und bei welcher Concentration diese Abtödtung erfolgt. Es wurde also hauptsächlich an die Ausnahmefälle gedacht, bei denen das Fleisch von Anfang an mit krankheitserregenden Keimen behaftet war, von denen die Gefahr einer Infection ausgehen konnte.

Dagegen ist nicht oder nur unvollständig untersucht worden, bis zu welcher Concentration ein Wachsthum von Organismen überhaupt stattfinden kann; ferner ob oberhalb dieser Grenze sofortiges Absterben beginnt, oder ob die Keime noch ihre Lebensfähigkeit behalten, ohne sich aber vermehren zu können; ob unterhalb dieser Grenze verschiedene Organismen in verschiedenen Abstufungen der Salzconcentration sich entwickeln, d. h. ob sie gegen Kochsalz ungleich resistent sind. Weiter kommt in Betracht die Frage, wie die Zersetzungsvorgänge unterhalb dieser Grenze beeinflusst werden, und ob dieser Einfluss durch ungleich hohe Empfindlichkeit der Bacterien zu erklären ist oder durch eine Veränderung der Zersetzungsproducte einzelner Organismen durch das Kochsalz.

Nicht allein der Gehalt an krankheitserregenden Keimen der Nahrungsmittel ist es, der sie gefährlich macht, sondern

auch die Veränderungen, denen sie infolge der Lebensthätigkeit von Mikroorganismen ausgesetzt sind. Um diese Veränderungen zu verhindern, wird sowohl Fisch als Fleisch, welche nicht frisch verbraucht werden, eingepökelt oder anders conservirt. Durch die täglichen Erfahrungen aber weiss man doch höchstens nur, wie viel Kochsalz ungefähr zugesetzt werden muss, um das Verderben der Nahrungsmittel zu verhindern, d. h. zu verhüten, dass übelriechende Producte gebildet werden, da es immer dieser stumpfste Sinn der Culturmenschen, der Geruch, ist, welcher das Urtheil fällt. Experimentell ist diese Menge nicht bestimmt worden, und man weiss weiter auch nicht, ob diese Salzmenge, die die Fäulnis hemmt, auch jede Zersetzung überhaupt hindert, oder ob noch oberhalb dieser Grenze weniger tiefgehende Veränderungen des Substrates erfolgen. Dieses angenommen, kann man sich vorstellen, dass entweder die Entwickelung eigentlicher Fäulniserreger völlig unterdrückt wird, oder dass sie sich zwar noch vermehren, aber nicht mehr stinkende Zersetzungsproducte erzeugen können. Es wäre denkbar, dass z. B. ein starker Indolbildner, in 7% Kochsalzbouillon überimpft, noch wachsen, aber kein Indol mehr bilden kann. Ein Beispiel solcher Veränderung der Zersetzung durch chemische Mittel liefert Mycoderma aceti. Effront[1]) hat nämlich nachgewiesen, dass die Zersetzungsproducte dieses Organismus durch Zusatz von Fluorwasserstoff und Gewöhnung an denselben verändert werden, und zwar so, dass weniger Essigsäure und anstatt deren mehr Kohlensäure gebildet wird. Von 100 vergorenen Theilen Alkohol wurden ohne Zusatz von Fluorwasserstoff 97 Theile Essigsäure, mit 0,12 ccm Fluorwasserstoff nur 2,6 gebildet.

Lässt sich in absoluten Zahlen angeben, wie gross der Kochsalzgehalt sein muss, um in allen Fällen Fäulnis zu verhindern, so wäre dies von grosser praktischer Bedeutung. Denn durch allzu starkes, übermässiges Einsalzen wird nicht nur der

1) Effront, J., Accoutumance des ferments aux antiseptiques et influences de cette accoutumance sur leur travail chimique. Compt. rend. de l'Acad. des sciences de Paris, T. CXIX, S. 169.

Geschmack verändert, sondern auch der Nährwerth des Fleisches herabgedrückt. Forster[1]) gibt an, dass gepökeltes Fleisch, welches ungekocht über 6% Kochsalz enthält, bereits unangenehm salzig schmeckt. Die Frage, ob in Medien, die so viel Salz enthalten, dass eigentlich Fäulnis unbedingt ausgeschlossen ist, noch bedeutendere von lebenden Organismen bedingte Veränderungen vorkommen, hängt mit der weiteren Frage zusammen, ob es vielleicht unter unseren Fisch- (oder Fleisch-) Conserven einige gibt, an deren eigenartigem Geruch und Geschmack niedrige Organismen mitwirken. Mehrere Momente deuten darauf hin, dass es sich wirklich so verhalten könne.

Obwohl somit das Einpökeln eine uralte und praktisch bewährte Conservirungsmethode für Fisch und Fleisch ist und obwohl bereits einige Untersuchungen vorliegen, welche die wissenschaftlichen Grundlagen dieses Verfahrens zu prüfen gestatten, sind dabei noch manche Fragen vorhanden, deren Beantwortung praktisches und wissenschaftliches Interesse bietet.

II. Ueber die Bedeutung des Wassergehaltes des Rohmaterials für die Zersetzung durch Mikroorganismen.

Wie klein der Procentgehalt Wasser einer der Entwickelung von Organismen übrigens geeigneten Masse sein darf, um Vermehrung und damit folgende Zersetzung zu verhindern, ist nur für einige Nährsubstrate bestimmt worden. Wolf[2]) fand, dass auf Gelatine mit 26,4% Wassergehalt von 7 untersuchten Arten Bacillus typhi und Bacillus anthracis noch eine Spur von Wachsthum zeigten, und auf Gelatine mit 41,5% Wasser nur Vibrio cholera völlig gehemmt wurde. In Fleischpulver mit 40% Wasser kamen Bacillus typhi, Bacillus anthracis und Vibrio cholera nicht mehr fort, wogegen Bacillus pyocyaneus, prodigiosus und Staphylococcus pyogenes aureus noch aufgingen. Nach

1) Forster, J., Ernährung und Nahrungsmittel. Handbuch d. Hygiene, herausgeg. von Pettenkofer und Ziemssen, I. Th., I. Abth., S. 194, 1882.

2) Wolf, Leo, Archiv f. Hygiene, Bd. XXXIV, 1899.

König[1]) enthält Stockfisch (getrockneter Schellfisch) 16% Wasser und 1,52% Salze, Fischmehl von Gadus-Arten 17,02% Wasser und 6,22% Salze und Leng (Gadus molva) 28,53% Wasser und 11,82% Salze. In dem letzteren Präparate ist schon der Salzgehalt so gross, dass auch dieser bei der Conservirung mithilft. Serafini[2]) gibt an, dass italienische Salami mit 46,6% Wasser und 4,8% Kochsalz sich lange Zeit hält. Dagegen sollen Münchener Bratwürste mit 66,95% Wasser und 3,3% Kochsalz und Regensburger Wurst mit 54,4 bis 61,4% Wasser und 2,2 bis 3,2% Kochsalz sich nur wenige Tage halten. Stärkeres Austrocknen bis zu einem Wassergehalt von ungefähr 35 bis 40% soll für die Haltbarkeit der Wurst nicht nöthig sein, obwohl es bisweilen so weit getrieben wird, dass nur 14% Wasser übrig bleiben. Der Käse, bei dessen Reifung Mikroorganismen eine wesentliche Rolle spielen, und welcher also diesen einen geeigneten Nährboden bieten muss, ist noch wasserärmer. So enthält fetter Edamer nur 32,5% Wasser, und der Maximalgehalt des fetten Emmenthalerkäses kann bis zu 29,4% hinabgehen. Der Widerspruch erklärt sich daraus, dass der Wassergehalt des frischen Käses bedeutend höher ist.

Es scheint also, so weit man aus diesen spärlichen Angaben schliessen kann, sicher zu sein, dass Nahrungsmittel aus dem Thierreiche mit einem Wassergehalt über 40% ohne Zusatz von Conservirungsmitteln der Zersetzung durch Bacterien, der Fäulnis oder Gährung unterliegen. Diese beiden Begriffe sind nicht strikte definirt, unter Fäulnis aber versteht man in der Sprache des täglichen Lebens jede durch Mikroorganismen hervorgerufene, unter Bildung von stinkenden Producten fortschreitende Zerstörung organischer Stoffe. Bei näherer Untersuchung hat es sich herausgestellt, dass gerade die Eiweissstoffe das Hauptobject der Fäulnis sind, und dass der Process hauptsächlich anaërob erfolgt.

1) König, J., Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel. Berlin 1883.
2) Serafini, S., a. a. O.

III. Versuchsanordnung und Untersuchungsmethoden.

Bei Zersetzung des Eiweisses werden ausser den unorganischen Endproducten Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Methan (Sumpfgas), Ammoniak und Kohlensäure, theils andersartige Eiweisskörper, theils organische Körper der Fettreihe, theils der aromatischen Reihe gebildet. Der ersten Gruppe gehören Albumosen und Peptone an, der zweiten Ammonsalze der flüchtigen fetten Säuren, Kapron-, Valerian- und Buttersäure, ferner Methylmercaptan und alkaloidähnliche Körper. Der dritten Reihe angehörende Stoffe sind stickstoffhaltig, wie Indol, Scatol, Scatolcarbonsäure und Tyrosin, oder stickstofffrei wie Phenol und Kresol, Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure. Bei der Fäulnis des Eiweisses durch anaërobe Mikroorganismen unter Abschluss von Sauerstoff erhielten Nencki und Bovet[1]) nur p-Oxyphenylpropionsäure, Phenylpropionsäure und Scatolessigsäure. Diese drei Säuren sollten durch Einwirkung des Wasserstoffs in statu nascendi aus den drei entsprechenden Amidosäuren Tyrosin, Phenylamidopropionsäure und Scatolamidoessigsäure entstehen. Doch ist es fraglich, ob man diese Resultate als allgemein giltig betrachten darf, da sie nur bei drei obligat anaëroben Organismen gewonnen wurden. Uebrigens spielen bei der Fäulnis auch die nicht obligat anaëroben Organismen eine ebenso grosse Rolle wie die obligaten.

Auch Fett, für dessen Zersetzung blosser Zutritt von Sauerstoff und Sonnenlicht genügt, wird von Mikroorganismen angegriffen, wie v. Sommaruga[2]) nachgewiesen hat.

Sobald die Zersetzung durch das Auftreten stinkender Producte und durch Aenderung der Farbe und Consistenz sich bemerklich macht, ist schon für unsere Sinne die Untauglichkeit zum Genusse des Nahrungsmittels entschieden. Wenn aber diese

1) Nencki, Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses durch anaërobe Spaltpilze. Monatshefte f. Chemie, Bd. X. S. 506.

1) Sommaruga, E. von, Ueber Stoffwechselproducte von Mikroorganismen. Zeitschrift f. Hygiene, 15, 16.

Momente in Folge des Salzzusatzes in Wegfall kommen, dabei jedoch die Zersetzung in anderer Gestalt weiterschreiten würde, so liegt es noch innerhalb der Grenze der Möglichkeit, dass theils direct schädigende, d. h. giftige, theils der Ernährung des Körpers unzuträgliche, oder im Vergleich mit den ursprünglichen, minderwerthige Producte entstehen, und dass das Nahrungsmittel verschlechtert wird. Wenn bei der Zersetzung dieselben Producte wie bei der natürlichen Verdauung gebildet werden, so ist man vielleicht anzunehmen berechtigt, dass eine solche Umsetzung, bei der nur Albumosen, Peptone und vielleicht auch einige Amidosäuren entstehen, unschädlich, bezw. nicht unnützlich sein könnte; natürlicher Weise aber nur dann, wenn diese Producte praktisch verwerthet werden könnten. Beim Pökeln wird gewöhnlich Lake gebildet, und es wäre anzunehmen, dass ein grosser Theil der Zersetzungsproducte in dieser bleibt, ohne zur Aufnahme und Ausnützung zu gelangen.

Mehrere von den genannten Zersetzungsproducten sind ziemlich schwierig nachweisbar, so dass die Methoden zu ihrem Nachweis für grössere Versuchsreihen biologischer Art sich nicht eignen, andere sind einfach nachzuweisen und genügen für praktische hygienische Zwecke. Im Folgenden sind neben Beobachtungen über Farbe, Geruch, Consistenz und Reaction Untersuchungen auf Pepton, Schwefelwasserstoff, Buttersäure, Indol, Ammoniak und Phenol und in einigen Fällen auf Tyrosin durchgeführt worden. Als Conservematerial wurde theils fettarmer Fisch (sog. Moldau-Weissfisch), theils fettfreies Rindfleisch benützt. Das Fleisch wurde in Stücken von ungefähr 1 kg gekauft, danach im Institute von Fett befreit, zerhackt, in Portionen von 50 g getheilt und mit Salz innig gemischt. Der Fisch ist auch so frisch wie möglich in Arbeit genommen worden, oft kam er noch lebend ins Institut. Er wurde angenommen und von Kopf, Flossen und Rückgrat befreit, sodann klein zerschnitten und wie das Fleisch präparirt. Durch dieses genaue Zerstücken des Materials, das eine von Anfang an möglichst gleichmässige Vertheilung des Salzes bezweckte, war zwar eine bedeutende Abweichung von dem beim Pökeln gebräuchlichen Verfahren gegeben. Da aber

nach Nothwang[1]) bei grösseren Stücken die Geschwindigkeit, mit welcher das Kochsalz eindringt, in erheblichem Maasse von der Concentration der Lake abhängt, scheint das Verfahren berechtigt zu sein. Das Kochsalz wurde immer in Substanz zugesetzt, was das einzige rationelle Verfahren ist, weil das Pökeln in der Lake einen weit grösseren Verlust an Bestandtheilen mit sich bringt als das Einlegen in Salz, wie derselbe Verfasser gezeigt hat. Das Salz wurde in dem Verhältnisse zugesetzt, dass der angegebene Procentgehalt sich auf die Gesammtmenge der fertigen Probe und nicht auf den dazu benützten Fisch oder das Fleisch bezog. Sollte z. B. eine Probe 10% Kochsalz enthalten, so wurden 45 g Fleisch mit 5 g Kochsalz gemischt. Da durch mehrfache Vorversuche (mit Strömling) festgestellt war, dass ungefähr 23% Salz die grösste Menge darstellt, die von diesem Fische gelöst werden kann, wurde die obere Grenze der Kochsalzzugabe für Fisch damit begrenzt und der Gleichmässigkeit halber auch für Rindfleisch. Als untere Grenze wurde der Gehalt von 5% genommen, der jedenfalls bedeutend niedriger ist als der irgend einer Conserve, deren Hauptconservirungsmittel das Kochsalz ist. In allen Proben wurde chemisch reines Chlornatrium und nicht Seesalz angewendet. Die abweichende Zusammensetzung dieser Waare dürfte keine grosse Rolle spielen. Nach Voit[2]) enthält das käufliche Salz ausser Chlornatrium bis 6,7% andere Bestandtheile.

Die so bereiteten Proben wurden in Glasgefässen mit gut schliessenden Stöpseln bei 25° C. aufbewahrt. Eine Verminderung des Wassergehaltes der Proben durch Verdunsten während der Beobachtungszeit ist ausgeschlossen. Die gewählte Temperatur kann nicht als zu hoch angesehen werden und wird im Sommer sicherlich auch häufig in den Speisekammern überschritten. Überhaupt kann es nur vortheilhaft sein, bei experimentellen Untersuchungen unter ungünstigeren Verhältnissen zu arbeiten, als sie in der Praxis vorkommen.

1) Nothwang, Fr., Der Salpetergehalt verschiedener Fleischwaaren und der Pökelprocess. Archiv f. Hygiene, Bd. XVI, 1893.

2) Voit, E., Ueber die Veränderung des Fleisches beim Einpökeln. Zeitschrift f. Biologie, Bd. XV, 1879, S. 493.

Für die Untersuchung auf Pepton wurde zu 50 g einer Probe unter Erwärmen so viel Ammonsulfat zugesetzt, dass beim Sieden noch ein unlöslicher Ueberschuss blieb, wonach die Masse warm filtrirt wurde. Nach Abkühlen des Filtrates und Ausscheiden der Salzcrystalle wurde die Biuretreaction angestellt. Zu dieser benützte ich 35 proc. Kalilauge, und die Probe wurde mehrmals mit verschieden grossen Zugaben von Kupfersulfat wiederholt, um einen negativen Ausfall sicher zu constatiren oder maximale Färbung bei positivem zu erhalten.

Da durch Vorproben festgestellt war, dass Ammoniak ein ziemlich reichlich vorkommendes Zersetzungsproduct ist, so mussten alle sehr empfindlichen Reactionen auf dasselbe, wie Destillation und Prüfung des Destillates mit Nessler's Reagenz verworfen werden. Auch Prüfung auf freies Ammoniak nach Zusatz verdünnter Lauge ohne Erwärmen erwies sich zu empfindlich. Anstatt dessen wurde durch Einhängen feuchten Lackmuspapieres in die Gefässe auf das Vorhandensein von spontan entwickeltem Ammoniak geschlossen.

Um Schwefelwasserstoff nachzuweisen, ist auf ähnliche Weise verfahren worden. Ein mit Bleiacetatlösung befeuchtetes Filtrirpapier wurde in das Gefäss eingehängt oder über die ganze Oeffnung desselben gelegt. Immer ist es nothwendig, durch irgend eine Manipulation den Gasen aus dem Inneren der Masse freien Austritt zu ermöglichen, ehe man sicher einen negativen Ausfall der Probe annimmt. Die Methode ist genügend empfindlich; gewöhnlich ist es gelungen, Schwefelwasserstoff nachzuweisen und zwar entweder sofort oder ein paar Tage, nachdem Stäbchen in Deckglastrockenpräparaten zu finden waren.

Um die Anwesenheit von Buttersäure zu bestimmen, wurde der sehr charakteristische Ananasgeruch des Aethylesters benützt. 50 g Fleisch- oder Fischmasse wurden mit Salzsäure sauer gemacht und destillirt; danach neutralisirte ich das Destillat mit Soda und dampfte es auf dem Wasserbade ein. Der trockne Rückstand wurde sodann mit Alkohol und Schwefelsäure versetzt.

Zur Prüfung auf Indol und Phenol (und Kresol) diente folgendes Verfahren. Eine Probe von 50 g wurde möglichst

fein zerrieben und mit Wasser bis 300—400 ccm versetzt, danach wurde Salzsäure zugegeben und die jetzt ziemlich dünne Masse destillirt, bis ungefähr 25 ccm Destillat übergegangen waren. Dieses Destillat wurde benützt, um Indol mit der Nitrosoindolreaction und Phenol (incl. Kresol) durch Zusatz von Bromwasser nachzuweisen. Der mit Bromwasser hervorgerufene Niederschlag wurde stets mikroskopisch untersucht, um die Crystallform zu constatiren. Oft, besonders im Destillat von Fisch, bekam ich mit Bromwasser einen nicht crystallinischen Niederschlag, der sich auch nicht in Crystallform bringen liess, wenn er in möglichst wenig Alkohol gelöst, nach Zusatz von wenig Wasser bis zur Lösung des Niederschlages erwärmt und wieder abgekühlt wurde.

Die Beobachtungszeit ist für die Proben, welche nur mit Kochsalz conservirt waren, auf $2^1/_2$ Monate ausgedehnt worden, was nicht zu lang, sondern eher als etwas kurz angesehen werden darf. Diese Zeit entspricht nicht völlig einem ganzen Sommer und mehrere Fischconserven, z. B. Häring und Strömling, werden nicht nur den Sommer, sondern das ganze Jahr über aufbewahrt, und auf Seereisen wird auch oft diese Zeit überschritten. In diesem Falle kommt noch dazu, dass durchaus nicht immer frisches Fleisch zum Proviant benützt wird, obwohl es so sein sollte.

Die folgenden Protokolle sind aus einem grösseren Materiale ausgelesen und mit den Angaben über das ungefähr früheste Auftreten von Pepton, Buttersäure, Indol und Phenol ergänzt.[1]) Weil eine ganze Probe, um die An- bezw. Abwesenheit dieser Stoffe zu bestätigen, verbraucht werden musste, war eine solche Ergänzung nöthig, da die Proben, welche die ganze Beobachtungszeit aufbewahrt werden sollten, für diese Untersuchungen nicht zu benützen waren. Uebrigens erforderte jede einzelne dieser Bestimmungen eine grössere Reihe Proben.

IV. Versuche mit Kochsalz.

Alle Proben von Rindfleisch und die meisten von Fisch reagirten von Anfang an sauer. In Deckglastrockenpräparaten aus den frisch bereiteten Proben konnten niemals Mikroorganis-

1) Vgl. Berliner klin. Wochenschrift, 1899, Nr. 42.

men nachgewiesen werden. Um Wiederholungen zu vermeiden, wird nur bei der Probe mit dem niedrigsten Salzgehalt das Aussehen der Masse angegeben und für die anderen die Abweichungen davon bemerkt.

I. Fisch.

1. Versuch.

5% Kochsalz. Die Masse grauweiss, fast gallertig; die Reaction schwach sauer; Geruch wie von frischem Fische; Lake ist nicht gebildet. 2 Tage. Die Consistenz fester, nicht gallertig; Deckglastrockenpräparate zeigen reichlich unregelmässig angeordnete Coccen von zwei verschiedenen Grössen und sehr wenige Stäbchen, die nach Gram nicht gefärbt werden, Nr. 7. 4 Tage. Reaction schwach alkalisch. 6 Tage. Riecht leicht faul; die Oberfläche von Bacteriencolonien und Schimmel (Penicillium glaucum) bedeckt. Schwefelwasserstoff nachgewiesen. Auf Agar sind Colonien von zwei Coccen, gelbe und weisse, fast gleich reichlich aufgegangen. 7 Tage. Ammoniak wird entwickelt. 10 Tage. Die Probe deutlich übelriechend, die Oberfläche schmierig, halbflüssig; starke Gasentwickelung. Pepton nachgewiesen. 12 Tage. Die Stäbchen beinahe so zahlreich wie die Coccen, auf Agarplatte sind Nr. 1, 2, 3 und 7 reichlich aufgegangen. Buttersäure nachgewiesen. 16 Tage. Die Oberfläche völlig flüssig, mit einem dicken Häutchen von Coccen und Stäbchen bedeckt, wogegen die Schimmelpilze fast ganz verschwunden sind. In der Tiefe sind die Fischstücke noch gut erhalten und haben eine lachsrothe Farbe bekommen. Indolreaction positiv, Phenol fehlt. 30 Tage. Die Probe intensiv übelriechend, grauroth; Consistenz weich. Auf Agarplatte sind reichlich aufgegangen Nr. 2 und Nr. 7, einzelne Colonien von Nr. 5. 55 Tage. Phenol nachgewiesen. Die Fischmasse ist sehr weich, und eine geringe Menge Flüssigkeit ist gebildet. In Deckglastrockenpräparaten sind die Coccen in geringerer Anzahl als die Stäbchen, von welchen es zwei verschiedene Sorten gibt, theils ziemlich lange Stäbchen, nach Gram nicht färbbar, theils weniger reichlich kleinere, welche nach Gram gefärbt werden. Auf Agar isolirt Nr. 2, 5, 7 und 8.

2. Versuch.

8% Kochsalz. 2 Tage. Deckglastrockenpräparate zeigen reichlich Coccen. 4 Tage. Die Oberfläche dicht besät mit weissen Coccencolonien. 6 Tage. Die Reaction alkalisch. Ammoniak wird entwickelt. Auf Agarplatte zwei Coccen Nr. 1 und 2 isolirt. 8 Tage Die Oberfläche mit einem Häutchen, bestehend aus Coccen- und Schimmelcolonien, bedeckt, Geruch wie von altem Käse, Reaction ziemlich stark alkalisch. 11 Tage. Pepton nachgewiesen. 14 Tage. Die Oberfläche schmierig, fast halbflüssig. Deckglastrockenpräparate aus der Tiefe enthalten ausser Coccen auch wenige Stäbchen. Schwefelwasserstoff nachgewiesen; starke Gasentwickelung. 23 Tage. Buttersäureprobe positiv. 29 Tage. Die Probe stark übelriechend; Indol nachgewiesen. In Deckglastrockenpräparaten nebst Coccen ziemlich reichlich Stäbchen; auf Agarplatte Nr. 1, 2, 3, 5 und 6 isolirt. 50 Tage. Die-

selben Coccen wie früher in Agarplatte, Nr. 1 ausgenommen, und ein Stäbchen Nr. 8. Phenolprobe negativ. 75 Tage. Die Probe stinkt intensiv nach Ammoniak, Buttersäure und Merkaptan. Die Oberfläche ist von einem dicken, schmierigen, aus Coccen und Stäbchen bestehenden Häutchen bedeckt. Eine unbedeutende Menge Flüssigkeit ist gebildet; die Fischstücke sind ziemlich gut erhalten, lachsfarbig. In Deckglastrockenpräparaten sind Coccen und Stäbchen fast gleich zahlreich, jene gewöhnlich unregelmässig angeordnet, bisweilen in kurzen Ketten. Die Stäbchen färben sich nach Gram, sind theils ziemlich lang und mässig dick, theils kürzer und ein wenig dicker, oft in Haufen. Phenol nachgewiesen, die Reaction ist aber sehr schwach. Auf Agar sind Coccen Nr. 2, 3, 5 und 6 und ein Stäbchen Nr. 10 aufgegangen.

3. Versuch.

10% Kochsalz. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten nur wenige Coccen. 6 Tage. Auf der Oberfläche zahlreiche Coccencolonien und Schimmelpilze; Deckglaspräparate zeigen jetzt reichlich Coccen. 8 Tage. Der Geruch erinnert an den gewisser alter Käsesorten, ist nicht faulig. 10 Tage. Die Reaction alkalisch; Ammoniak wird entwickelt. Durch Agarplatte isolirt Nr. 1 und 2, fast gleich reichlich. 14 Tage. Die Oberfläche schmierig, starke Gasentwickelung. 23 Tage. Buttersäure nachgewiesen. 26 Tage. Einzelne Stäbchen werden in Deckglaspräparaten gefunden; Schwefelwasserstoffprobe negativ. 28 Tage. Schwefelwasserstoff wird entwickelt. 30 Tage. Pepton nachgewiesen, Indol abwesend. In Agarplatte sind Coccen Nr. 2 und 3 und Stäbchen Nr. 9 isolirt. 50 Tage. Die Probe stark übelriechend, Consistenz weich, nicht allzu wenig Flüssigkeit ist gebildet, in welcher in einer Probe weisse Körnchen, die aus Stäbchenanhäufungen bestehen, schwimmen; Schimmel ist verschwunden. Die Stäbchen, die wahrscheinlich alle einer Art angehören, färben sich nach Gram und zeigen sehr wechselnde Formen; theils sind sie lange Fäden, theils Kurzstäbchen; oft sind sie gebogen, bisweilen spiralig. Auf Agarplatte sind Nr. 3, 4 und 10 isolirt. 68 Tage. Indol nachgewiesen. 75 Tage. Die Masse noch weicher. Probe auf Phenol negativ ausgefallen[1]). Auf Agar sind dieselben Organismen wie früher isolirt und daneben auch einzelne Colonien von Nr. 6.

4. Versuch.

12% Kochsalz. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten nur einzelne Coccen. 6 Tage. Eine kleine Menge Lake ist gebildet, auf der Oberfläche reichlich Coccencolonien; die Coccen sind in Präparaten sehr reichlich, auch sind einige Hefen zu sehen. 12 Tage. Unangenehmer Geruch; die Reaction alkalisch, Ammoniak wird entwickelt; in den tieferen Theilen der Probe reichlich Gasblasen. In Agarplatte Coccen Nr. 2 und 3 isolirt. 30 Tage. Auf der Oberfläche, die missfarbig und schmierig ist, kommen auch Schimmelcolonien vor. In Agarplatte Coccen Nr. 3 und 4. 48 Tage. Riecht wie

1) Ein Mal wurde Phenol in einer 10proc. Fischprobe gefunden. In allen übrigen Fällen fehlte es.

verdorbener Käse; die Oberfläche halbflüssig. Nur Coccen. 52 Tage. In Deckglaspräparaten wenige Stäbchen; Buttersäure nachgewiesen. Auf Agarplatten ist nur der Coccus Nr. 3 reichlich aufgegangen. 58 Tage. Die Probe ist sehr übelriechend von Buttersäure, Ammoniak und Merkaptan; Schwefelwasserstoff wird entwickelt, Pepton nachgewiesen; auf Agarplatten ausser Coccen einzelne Colonien von einem Stäbchen Nr. 11 aufgegangen. 75 Tage. Die Probe ziemlich fest, die einzelnen Fischstücke gut erhalten, lachsfarbig; nicht allzu wenig Flüssigkeit ist gebildet. In Deckglastrockenpräparaten nebst Coccen reichlich mässig dicke Stäbchen von sehr variirender Form, bisweilen sind sie auch verzweigt; färben sich nach Gram. Indolreaction positiv, Phenol abwesend. Auf Agar sind Coccen Nr. 3, 4, 5 und Stäbchen Nr. 10 und 11 aufgegangen.

5. Versuch.

15% Kochsalz. 2 Tage. Kleine Menge Lake ist gebildet, die Masse sehr fest. 14 Tage. Der Geruch schwach süsslich; Deckglastrockenpräparate enthalten reichlich hefeähnliche Organismen, die sich in Würzegelatineplatten isoliren lassen, Nr. 13, und wenige Coccen. Auf Agar sind Nr. 3 und 4 aufgegangen. 34 Tage. Hefen und Coccen sehr zahlreich; auf der Oberfläche auch Schimmelcolonien. 34 Tage. Reaction alkalisch, der Geruch leicht ranzig. Auf der Oberfläche ein Belag von Coccen- und Hefencolonien. In Platten dieselben Organismen wie früher. 75 Tage. Der Geruch wie früher, die Farbe schmutzig rosa; Buttersäure und Pepton nachgewiesen. In Platten dieselben Hefen und Coccen wie früher.

6. Versuch.

18% Kochsalz. 2 Tage. Reichlich Lake; die Consistenz der Probe sehr fest. 15 Tage. Ziemlich reichlich Hefen und Coccen. 30 Tage. In Platten fast gleich zahlreich Coccen Nr. 3 und 4. Auf Würzegelatine Nr. 13. 60 Tage. Der Geruch uncharakteristisch, nicht unangenehm, die Reaction alkalisch. In der Lake schwimmen einige Schimmelcolonien. 75 Tage. Die Consistenz sehr fest, die Farbe grauroth, der Geruch wie von eingepökeltem, leicht ranzigem Fische. In Präparaten von der Oberfläche reichlich Hefen und Coccen, aus der Tiefe bedeutend weniger zahlreich, besonders die Hefen. In Agarplatten Nr. 3 und 4 Buttersäure nachgewiesen. Peptonprobe negativ.

7. Versuch.

20% Kochsalz. 36 Tage. Eine bedeutende Menge Lake ist gebildet, keine Mikroorganismen. 50 Tage. Präparate halten nur einzelne Coccen und Hefen. 75 Tage. Geruch nicht unangenehm, nach eingesalzenem Fische, nicht nach Häring oder Käse. Die Fischstücke sehr fest, schwach grau-rosa gefärbt. Probe auf Pepton und Buttersäure negativ. Auf Agar Coccen Nr. 3 und 4 aufgegangen.

8. Versuch.

23% Kochsalz. Nach 75 Tagen sind in Deckglastrockenpräparaten noch keine Mikroorganismen zu finden, und auf Platten gehen nur wenige Colonien von verschiedenem Aussehen auf.

II. Rindfleisch.

9. Versuch.

5% Kochsalz. Die Fleischmasse hell rothbraun, wenig dunkler als das frische Fleisch, dessen charakteristischen Geruch sie besitzt; die Consistenz ziemlich fest, zäh; keine Lake. 2 Tage. Farbe dunkler, der Geruch schwach süsslich, Deckglastrockenpräparate enthalten reichlich Coccen in unregelmässiger Anordnung, wenige Stäbchen und Hefen. 6 Tage. Die Probe übelriechend; Schwefelwasserstoff wird entwickelt; auf der Oberfläche äusserst zahlreiche Coccencolonien. 7 Tage. Die Reaction alkalisch, Ammoniakprobe positiv; auf der Oberfläche auch einige Schimmelcolonien. 10 Tage. Buttersäure nachgewiesen. Auf Agar lassen sich Coccen Nr. 3 und 4, Stäbchen Nr. 7 und 12 isoliren. 15 Tage. Die oberen Theile der Fleischmasse sind grün gefärbt. Präparate sowohl von der Oberfläche als von der Tiefe zeigen ausser Coccen ziemlich reichlich kurze Stäbchen, die sich nach Gram nicht färben. 26 Tage. Die Probe ist intensiv übelriechend, von Glasblasen durchsetzt, schwarzgrün und sehr weich. Die mit HCl sauer gemachte Masse riecht stark nach Buttersäure. Indol nachgewiesen. Auf Agarplatte lassen sich Nr. 6, 7 und 9 isoliren. 50 Tage. Riecht stark nach Ammoniak und faulem Käse; auf Agarplatte gehen der Coccus Nr. 6 und das Stäbchen Nr. 9 auf. 75 Tage. Das Aussehen ungefähr wie früher. Probe auf Phenol negativ. Deckglaspräparate zeigen fast nur lange, ziemlich schmale Stäbchen, färbbar nach Gram. Auf Agar fast nur die früher genannten Organismen aufgegangen.

10. Versuch.

8% Kochsalz. 2 Tage. Geruch schwach süsslich; Deckglastrockenpräparate enthalten reichlich Coccen und wenige Hefen. Auf der Oberfläche punktförmige Coccencolonien. 9 Tage. Die Oberfläche von einem Häutchen, bestehend aus Coccen- und Schimmelcolonien, bedeckt; Reaction alkalisch. In Deckglaspräparaten sind äusserst reichlich Coccen, wenig Stäbchen und Hefen; Ammoniak nachgewiesen; Schwefelwasserstoffprobe negativ. 12 Tage. Schwefelwasserstoff wird entwickelt; die obersten Theile sind graugrün, missfarbig; Geruch wie von altem Käse. Hefen fast ganz verschwunden. Auf Agar lassen sich die Coccen Nr. 1 und 2 isoliren. 17 Tage. Buttersäure nachgewiesen. 20 Tage. Pepton nachgewiesen. 30 Tage. In Präparaten reichlich Coccen, theils in kurzen Ketten, theils unregelmässig; spärliche Stäbchen. Auf Agar sind die vorigen Coccen und Nr. 6 isolirt. 50 Tage. Die Probe übelriechend, Consistenz weicher als anfangs, besonders in den oberflächlichen Theilen; auf der fast flüssigen Oberfläche schwimmen einige Schimmelcolonien. Auf Agar dieselben Coccen wie früher isolirt. 75 Tage. Die Consistenz noch weicher. In Präparaten sehr reichlich Stäbchen, fast zahlreicher als Coccen. Die Stäbchen zeigen variirende Formen und Grösse, sind oft verzweigt und kolbig verdickt, färben sich nach Gram. Indol nachgewiesen. Auf Agar sind neben den Coccen Nr. 1 und 6 wenige Colonien von dem Stäbchen Nr. 9 aufgegangen.

11. Versuch.

10% Kochsalz. 2 Tage. Wenige Coccen. 4 Tage. Geruch süsslich, reichlich Coccen, wenige Hefen. 8 Tage. Riecht wie Käse, die Oberfläche dicht besät mit Coccencolonien. 9 Tage. Reaction alkalisch. 12 Tage. Ammoniakentwickelung. Auf Agar Coccen Nr. 1 und 2 isolirt. 20 Tage. Oberfläche mit einem Häutchen von Coccen und auch Schimmel bedeckt. Buttersäure nachgewiesen. 30 Tage. Probe auf Pepton positiv. Auf Agar dieselben Coccen aufgegangen. 36 Tage. Der Geruch unangenehm; nebst Coccen auch Stäbchen; Hefen fast verschwunden; Schwefelwasserstoffprobe negativ. 40 Tage. Schwefelwasserstoffentwickelung. 50 Tage. Die Probe stark übelriechend, Oberfläche schwarzgrün, reichliche Gasentwickelung. In Deckglaspräparaten überwiegend Coccen. Auf Agar sind Nr. 1, 2, 3 und 6 isolirt. 75 Tage. Die Probe stinkt intensiv; nach Zusatz von HCl starker Buttersäuregeruch; Consistenz der obersten Theile halbflüssig. In Deckglastrockenpräparaten ausser Coccen auch ziemlich reichlich dicke Stäbchen, färben sich nach Gram, und seltener einige schmalere, nach Gram nicht färbbare. Spur von Indol nachgewiesen; Probe auf Phenol negativ. Auf Agar lassen sich Nr. 1, 3 und 6 isoliren.

12. Versuch.

12% Kochsalz. 2 Tage. Keine Mikroorganismen. 4 Tage. Deckglaspräparate enthalten sehr spärlich Coccen. 8 Tage. Die Oberfläche voll von gelblichen und weissen Coccencolonien. Auf Agar sind die Coccen Nr. 1 und 3 isolirt. 15 Tage. Auf der Oberfläche auch Schimmelcolonien; Reaction alkalisch. 20 Tage. Ammoniakentwickelung. 26 Tage. Pepton und Buttersäure nachgewiesen. Auf Agar sind dieselben Coccen wie früher aufgegangen. 50 Tage. Geruch wie von dumpfigem Fleische. In Präparaten sehr reichlich Coccen unregelmässig in Haufen, wenige Hefen. Coccen Nr. 1 und 3 sind isolirt. 75 Tage. Consistenz fest, Farbe ziemlich dunkel rothbraun, Geruch unangenehm. Keine Lake. Keine Stäbchen. Proben auf Schwefelwasserstoff und Indol negativ. Das Destillat übelriechend. Auf Agar sind Nr. 3 und 6 isolirt.

13. Versuch.

15% Kochsalz. 2 Tage. Eine kleine Menge Lake gebildet. Keine Organismen. 7 Tage. Präparate enthalten Coccen und Hefen, diese wenig zahlreich. 10 Tage. Geruch süsslich; auf Agar Nr. 4, auf Bierwürzegelatine Nr. 13 isolirt. 20 Tage. Reaction alkalisch. 35 Tage. Geruch süsslich, aber auch an Pökelfleisch erinnernd. Pepton nachgewiesen. Coccen und Hefen sind beide sehr zahlreich. Auf der Oberfläche ein Häutchen, bestehend aus Coccen-, Hefen- und Schimmelcolonien. 45 Tage. Buttersäure nachgewiesen. Coccen Nr. 3, 4 und 6 isolirt. 75 Tage. Ammoniakentwickelung. Consistenz fest, Farbe rothbraun. Einige Proben riechen nach fauler Presshefe, andere nach altem Pökelfleisch. In den tiefsten Schichten sind die Coccen und Hefen viel weniger zahlreich als in den obersten. Auf Agar sind die Coccen Nr. 3 und 6 aufgegangen.

14. Versuch.

18% Kochsalz. 2 Tage. Das Fleisch sehr fest, ziemlich reichlich Lake. 10 Tage. Geruch wie anfangs. In Deckglaspräparaten wenige Coccen und Hefen. 18 Tage. Reichlich Coccen und Hefen. Geruch wie von Pökelfleisch, aber auch süsslich. 30 Tage. Probe auf Pepton negativ. In den tiefsten Theilen der Probe sind sehr wenige Organismen. 50 Tage. Auf Agar sind die Coccen Nr. 3 und 4 aufgegangen. 60 Tage. Die Reaction amphoter. 75 Tage. Reaction immerfort amphoter, keine Ammoniakentwickelung. Fleischmasse fest, in den oberen Schichten rothbraun, in den tieferen grauroth, Geruch wie früher. Buttersäure und Spuren von Pepton nachgewiesen. Das Destillat kaum übelriechend.

15. Versuch.

20% Kochsalz. 6 Tage. Fleischmasse sehr fest, hat sich von den Gefässwänden zusammengezogen; reichlich Lake. 32 Tage. Spärlich Hefen und Coccen in Deckglaspräparaten. 50 Tage. Auf Agar ist Nr. 4 aufgegangen, aber auch viele andere Colonien von sehr verschiedenem Aussehen. 75 Tage. Reaction sauer, die Probe ist hell rothbraun und hat einen gar nicht unangenehmen Geruch nach Pökelfleisch. In den obersten Schichten wenige Coccen und Hefen, in den tieferen keine. Proben auf Pepton und Buttersäure gewöhnlich negativ.

16. Versuch.

23% Kochsalz. 29 Tage. Die Fleischmasse von demselben Aussehen wie das der vorigen Probe, noch reichlichere rothe, klare Lake. Nicht allzu wenige Coccen und Hefen. Auf Agar sind Colonien von fast nur einer Sorte aufgegangen, Nr. 6. (Platten von anderen Proben enthielten dagegen oft viele verschiedene, wie Nr. 15.) Bisweilen sind kleinere Mengen ungelösten Kochsalzes auf dem Boden des Gefässes zu sehen.

Beschreibung der aus den Versuchsproben isolirten Organismen.

Nr. I. Ziemlich kleine, 0,6 μ grosse Coccen, rund oder leicht oval, mit Theilungslinie, gewöhnlich unregelmässig angeordnet in Haufen, bisweilen zu zweien oder dreien.

Colonien auf Gelatineplatte sind nach 5 Tagen ungefähr 1 mm gross, gelb-orange, rund, flach, eingesenkt mit ziemlich breiter Verflüssigungszone. Später zerfallen die Colonien. Bei 60facher Vergrösserung tiefe Colonien dunkel-orange, rund, glattrandig; aufliegende grobkörnig, nicht völlig glattrandig, der Rand orange, die Mitte dunkelgelb. In Gelatinestich fängt die Verflüssigung nach 2 Tagen an und schreitet strumpf- oder trichterförmig rasch weiter. Auf der Oberfläche der flüssigen Gelatine

und am Boden des Schlauches gelbe Massen von Coccen. Auf Agarplatte Oberflächencolonien rund, flach, gelb-orange, feucht, tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert aufliegende Colonien grobkörnig mit dünnem, nicht scharfem, durchscheinenden Rande und gelber Mitte; tiefe Colonien unregelmässig, oft oval, feinkörnig, bisweilen nicht völlig glattrandig. Agarstrich: Mässig dicker, schmutziggelber oder gelb-oranger Belag. Auf alkalischer Kartoffel ziemlich dicker und breiter, schmutziggelber oder gelb-oranger, feuchter und glänzender Belag. Auf saurer Kartoffel ist das Wachsthum nicht so ausgiebig und mehr reingelb. Bouillon wird getrübt. Bodensatz leicht zertheilbar. Milch gerinnt nach ungefähr einer Woche, später scheint das Coagulum langsam theilweise gelöst zu werden. Die Reaction wird leicht alkalisch. Wächst am besten aërob. Das Wachsthum wird durch kleineren Salzzusatz nicht sehr bedeutend gehemmt. Wächst auch in Bouillon mit 20% Kochsalz, zähen Bodensatz und Trübung hervorrufend.

Vergährt nicht Traubenzucker und bildet keinen Schwefelwasserstoff.[1]) Bildet kleine Mengen Buttersäure. Wird das Destillat von älteren (3 Wochen alten) Bouilloncultureu mit Alkohol und Schwefelsäure versetzt, ist Ananasgeruch deutlich zu bemerken. Doch werden wahrscheinlich auch andere flüchtige Säuren gebildet, weil der Geruch nicht rein ist.

In mehreren Beziehungen ist der Coccus dem Staphylococcus aureus ähnlich, doch wird die Farbe nie so schön orangegelb. Um die Pathogenität zu untersuchen, wurden 4 ccm Bouilloncultur einem Kaninchen subcutan injicirt. Die injicirte Cultur war am zweiten Tage resorbirt, und ein Abscess wurde nicht hervorgerufen. Einem zweiten Kaninchen wurden 5 ccm der Aufschwemmung einer Agarcultur in sterilisirter Bouilloncultur von Proteus subcutan injicirt. Am zweiten Tage war an der Injectionsstelle eine ziemlich grosse ödematöse Anschwellung entstanden. Diese wurde am vierten Tage aseptisch eingeschnitten. Eiter

1) Die Untersuchung auf Schwefelwasserstoffbildung ist nach der von Morris (Archiv f. Hygiene, Bd. XXX) angegebenen Weise ausgeführt worden.

war nicht zu finden und aus der Oedemflüssigkeit gingen auf schrägem Agar keine Colonien auf. Für Kaninchen scheint dieser Coccus keine pathogenen Eigenschaften zu besitzen und ist also mit dem Staphylococcus aureus wahrscheinlich nicht identisch.

Nr. II. Mittelgrosse, 1 μ-Coccen, rund oder schwach länglich.

Auf Gelatineplatte rein weisse, nach 4 Tagen 0,5 mm grosse, wenig eingesenkte, runde Colonien. Vergrössert tiefe Colonien glattrandig, äusserst dunkel, aufliegende grau, grobkörnig mit zerfliessendem Rande. Gelatinestich fast völlig wie bei Nr. 1, aber die Farbe des Bodensatzes und der schwimmenden Masse weiss. Auf Agarplatte aufliegende Colonien nach 2 Tagen 1,5 mm gross, rund, flach, grauweiss, tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert: Oberflächencolonien grau, grobkörnig mit dünnem, fast glattem Rande, tiefe Col. rund oder oval, nur feinkörnig, Rand leicht rauh. Auf schrägem Agar rein weisser, glänzender, ziemlich dünner Belag. Condenswasser klar. Auf alkalischer Kartoffel mässig dicker, bisweilen schwach glänzender, trockener, grauweisser oder gelblichweisser Belag von ziemlich fester Consistenz. Bouillon wird getrübt, Bodensatz leicht zertheilbar. Milch gerinnt nach längerem Stehen, und das Gerinnsel wird langsam theilweise gelöst. Reaction schwach alkalisch.

Verhält sich bei Salzzusatz zu den Nährböden wie Nr. 1.

Wächst am besten aërob. Vergährt nicht Traubenzucker und bildet keinen Schwefelwasserstoff.

Nr. III. Stimmt in fast allen Beziehungen mit Mikrococcus candicans überein. Wächst bei Salzzusatz zu den Nährböden ebenso gut wie die zwei vorigen.

Nr. IV. Ziemlich kleine, etwa 0,7 μ grosse, runde Coccen in unregelmässiger Anordnung oder kurzen Ketten.

Auf Gelatineplatte flache, gelbe, runde Oberflächencolonien; vergrössert: aufliegende Colonien, durchscheinend, rein gelb, feinkörnig, mit verdünntem, glatten Rande. Tiefe Colonien noch feinkörniger. Auf schräger Gelatine flacher, ziemlich breiter, glatter und glänzender, wenig feuchter, weissgelber oder in der Mitte hellschwefelgelber Belag. Rand wellig oder fast glatt. In

Gelatinestich gutes Wachsthum in dem Stiche und auf der Oberfläche. Nach 2 Wochen tritt Verflüssigung ein, die sehr langsam horizontal weiter schreitet. Auf Agar aufliegende Colonien nach 2 Tagen 1 mm gross, rund, flach, feuchtglänzend, weiss oder gelbweiss; tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert: Oberflächencolonien gelbgrau, ziemlich grobkörnig, mit verdünntem, bisweilen nicht völlig glattem Rande. Tiefe Colonien dunkel, oft oval. Auf schrägem Agar mässig dicker, flacher, zäher, gelbweisser, glänzender Belag. Condenswasser klar. Auf alkalischer Kartoffel ziemlich dicker und breiter, sahnenähnlicher, glänzender, gelbweisser Belag von Butterconsistenz. Auf saurer Kartoffel unbedeutender, weisser Belag. Bouillon wird getrübt und geringer, fadenziehender, schwer zertheilbarer Bodensatz gebildet. Milch wird schwach sauer, coagulirt jedoch gewöhnlich nicht, beim Aufkochen gerinnt sie sofort.

In Bouillon mit 20% Kochsalz ist das Wachsthum noch sehr ausgiebig. Die Bouillon wird getrübt, und zäher, schwer zertheilbarer Bodensatz wird gebildet.

Nr. V. Am besten anaërob wachsender Streptococcus und Nr. VI aërob und anaërob gleich gut vegetirender Staphylococcus ohne Farbstoffproduction. Verflüssigt nicht Gelatine.

Nr. VII. Kurze, gegen 1,0 μ lange, ziemlich dicke Stäbchen, die kräftige Eigenbewegungen zeigen. Bisweilen sind sie zu zweien angeordnet, in alten Bouillonculturen kommen selten Ketten von sechs und mehreren Individuen vor. Wird nach Gram entfärbt.

In Gelatineplatte tritt Verflüssigung rasch ein, so dass auch nur punktförmige Colonien in einer tiefen, bläulichen Schale liegen. Vergrössert sind die kleinsten Colonien glattrandig, feingekörnt; die grösseren haben grobkörniges Centrum, eine äussere helle, faserige Zone und einen breiten, schönen Strahlenkranz. Auch grössere Colonien, deren Mitte zu einer flüssigen, uncharakteristischen Masse zerfallen ist, zeigen oft diesen Strahlenkranz. In Gelatinestich rasche Verflüssigung, oft cylindrisch im ganzen Stichcanale mit wolkenförmigem Bodensatz; bisweilen schreitet die Verflüssigung horizontal weiter. Colonien auf Agar

sind denen der Gelatineplatte ähnlich. Vergrössert: tiefe Colonien gelb, uneben, mit haarigem Rande, oberflächliche mit ähnlichem Centrum und einer dünnen, breiten, gelappten äusseren Zone. Auf schrägem Agar jünger: dünner, durchscheinender, älter: weisslicher, feuchter, glänzender Belag, der rasch die Oberfläche überzieht. Condenswasser trüb, Bodensatz. Auf Kartoffel graugelber, wenig feuchter Belag mit verdünntem Rande. Kartoffel missfarbig. Milch wird peptonisirt, bisweilen nach voriger Coagulation. Bouillon wird stark getrübt, kein Häutchen, wenig Bodensatz.

Auch bei einem Zusatz von 5% Kochsalz zu dem Nährboden ist das Wachsthum gut, wird aber 8% zugesetzt, so bleibt das Wachsthum fast regelmässig aus.

Traubenzucker wird vergohren. Bildung von Indol und grossen Mengen Schwefelwasserstoff finden statt auch in Nährböden mit 5% Kochsalz.

Die Charaktere stimmen mit denen des Bacillus punctatus Zimmermann[1]) gut überein.

Nr. VIII. Abgestutzte, 3 μ und mehr lange, bis 1,0 μ breite Stäbchen. Bildet Sporen. Diese sind oval, mittelständig, im freien Zustande dicker als die Stäbchen. Hat Eigenbewegung; färbt sich nach Gram.

Gelatineplatte. Vergrössert sind kleinere punktförmige Colonien wie ein Gewirr von Spinnengewebefäden. Bisweilen haben sie dickere, radiäre Ausläufer. Die grösseren sind rund, eingesenkt, mit faserigem Centrum und regelmässigem Strahlenkranz. Gelatinestich ist anfangs aus kleinen Pünktchen zusammengesetzt mit schalenförmiger Verflüssigung, die später strumpfförmig wird. Keine Aestchen. Auf der flüssigen Gelatine dickes, oft faltiges Häutchen. Auf Agarplatte oberflächliche Colonien dünn, durchscheinend, unregelmässig gelappt oder mit Ausläufern versehen; vergrössert grau, grobgekörnt, mit unregelmässigem Rande oder grossen Ausläufern. Tiefe Colonien oft oval, anfangs glattrandig, später faserig. Auf schrägem Agar ziemlich dünner

1) Zimmermann, W., Bacterien unserer Trink- und Nutzwässer etc., Chemnitz 1890.

und durchscheinender, später weisslicher, ausgebreiteter, bisweilen faltiger, fettähnlicher Belag. Condenswasser fast klar mit Bodensatz und derbem Häutchen. Auf Kartoffel dicker, grauweisser, stark faltiger und runzeliger Belag, der fast die ganze Kartoffeloberfläche überzieht. Die Erhebungen bilden oft netzförmige Zeichnungen. Bouillon wird leicht getrübt; dickes, älter faltiges Häutchen, das beim Schütteln zusammenklebt und auf den Boden sinkt, wonach ein neues Häutchen sich bilden kann. Milch wird coagulirt, später langsam verflüssigt.

Ist gegen Kochsalz wenig empfindlich, in Bouillon mit 10proc. Kochsalz ist das Wachsthum ausgiebig, wird aber der Kochsalzgehalt auf 15% erhöht, kommt er gewöhnlich nicht weiter.

Der Organismus ist überwiegend aërob; er bildet grosse Mengen Schwefelwasserstoff, aber vergährt nicht Traubenzucker und bildet in Peptonbouillon kein Indol.

Stimmt völlig mit Bacillus mesenterius vulgatus Flügge überein (s. Tabelle S. 204).

Nr. IX. Lange, 4 μ und mehr, schlanke, bisweilen gekrümmte Stäbchen, die zu langen Fäden vereinigt sind, welche, mit einander verfilzt, sehr zähe Massen bilden. Hat Eigenbewegung und färbt sich nach Gram. Sporenbildung nie beobachtet.

Auf Gelatineplatte sind die Colonien nach 10 Tagen 1 mm gross, bläulich durchscheinend, wenig eingesenkt. Vergrössert gleichen die grösseren verfilzten Strähnen mit aus korkzieherähnlichen Fäden zusammengesetzten Ausläufern; die grösseren haben faseriges Centrum mit regelmässig strahligem Rande. In Gelatinestich langsam strumpfförmige Verflüssigung ohne Aestchen. Auf Agarplatte grössere aufliegende Colonien dünn, durchscheinend bläulich, mit weissem dickerem Centrum und gezähntem Rande. Tiefe Colonien unregelmässig, borstig. Vergrössert sind die tiefen Colonien gelb, grobkörnig, wie aus kleineren, oft glattrandigen Schollen zusammengesetzt, mit langen, ebenso gebauten Ausläufern. Aufliegende Colonien haben ähnliches Centrum und eine breite, dünne, grobkörnige, lappige äussere Zone. Auf schrägem Agar dünner, durchscheinender, dem Nährboden stark

anhaftender Belag. Condenswasser klar. Auf Kartoffel schlechtes Wachsthum, dünner, grauweisser, feuchter Belag. Bouillon wird leicht getrübt, zäher Bodensatz. Scheint in Milch sich nur unbedeutend zu vermehren und weder die Reaction noch das Ansehen wird verändert.

Ist gegen Kochsalz wenig empfindlich; Bouillon mit 15% Kochsalz wird nach einigen Tagen getrübt, und zäher, sehr schwer zertheilbarer Bodensatz wird gebildet.

Bildet grosse Mengen Schwefelwasserstoff, vergährt aber nicht Traubenzucker und scheint in Peptonbouillon kein Indol zu bilden.

Der Organismus ist in mehreren Beziehungen dem Bacillus Megatherium ähnlich, von dem er jedoch dadurch abweicht, dass er wahrscheinlich keine Sporen bildet und auf Kartoffel und in Milch schlecht wächst.

Nr. X. Kurze, bis 1,0 μ, selten längere, mässig dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden. Bisweilen zu je zwei angeordnet. Hat Eigenbewegung und färbt sich nach Gram.

Colonien auf Gelatineplatte rund, leicht erhaben, grauweiss; vergrössert gelblich, feinkörnig, scharfrandig und oft concentrisch geschichtet. Wächst in Gelatinestich langsam sowohl im Stichcanal als auf der Oberfläche mit dünnem, durchscheinenden wenig ausgebreiteten Belag. Keine Verflüssigung. Auf Agarplatte runde, graugelbe, im durchfallenden Licht bläuliche Colonien; vergrössert auch glattrandig, grobkörnig. Auf schrägem Agar dünner, grauweisser oder bläulicher, durchscheinender Belag. Condenswasser klar mit schleimigem Bodensatz. Auf Kartoffel schmutziggelber, nicht sehr dicker, zäher Belag, der der Kartoffel sehr fest anhaftet. Bouillon wird gleichmässig getrübt; Bodensatz gering. Milch wird schwach sauer, aber coagulirt nicht.

Das Stäbchen wächst am besten aërob. Ist gegen Kochsalz sehr wenig empfindlich; überimpft man es aus gewöhnlicher Bouillon in solche mit 15% Kochsalz, ist sie schon nach drei Tagen ziemlich stark getrübt.

Bildet langsam kleine Mengen Schwefelwasserstoff. Traubenzucker wird nicht vergohren und in Peptonbouillon kein Indol gebildet.

Nr. XI. Mässig dicke Stäbchen mit bedeutend variirender Länge, von ca. 2,0 μ bis 8,0 μ. Bisweilen bilden sie lange zergliederte Fäden. Hat langsame, wiegende Eigenbewegung. Färbt sich nach Gram.

Auf Gelatineplatte ist das Wachsthum sehr langsam. Nach 12—14 Tagen sind aufliegende Colonien höchstens 1 mm gross, wie dünne blaue Häutchen mit unregelmässigem Umkreis. Vergrössert graugelb, grobkörnig oder chagrinirt, mit dünnem, ungefärbten, zackigen Rande. Tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert gelb, feinkörnig, glattrandig. Im Gelatinestich langsames Wachsthum im Stichcanal und auf der Oberfläche, wo ein bläulicher, lappiger, nicht sehr dicker Belag entsteht. Nach langer Zeit entsteht bisweilen unbedeutende Verflüssigung. Selten entstehen im Stich abstehende Aestchen. Auf Agarplatte wächst das Stäbchen auch sehr langsam. Nach einer Woche sind die Colonien nur punktförmig. Vergrössert sind die tiefen anfangs grossgekörnt, rundlich und ziemlich glattrandig, später werden sie besonders am Rand verfilzten Fasern ähnlich. Die grösseren Oberflächencolonien haben ein ähnliches Centrum und eine dünne, faserige äussere Zone. Auf schrägem Agar nicht sehr breiter, dünner, durchscheinend bläulicher Belag. Condenswasser klar mit unbedeutendem Bodensatz. Auf Kartoffel findet kein Wachsthum statt. Bouillon wird anfangs getrübt, später bildet sich Bodensatz. Milch wird nicht verändert.

Der Organismus ist gegen Kochsalz wenig empfindlich, wächst noch in Bouillon mit 12% Kochsalz. 10% Kochsalzbouillon wird in 2—3 Tagen stark getrübt, und die Stäbchen sind gut beweglich. 15% Kochsalz genügt in der Regel, um sein Wachsthum zu hemmen. In gewöhnlicher Bouillon wächst er meistens nicht viel besser als in Bouillon mit 5 und 10% Kochsalz.

Bildet weder Schwefelwasserstoff noch Indol in Peptonbouillon und vergährt Traubenzucker nicht.

Nr. XII. Kurze Stäbchen von ca. 1,0 u, bisweilen auswachsend zu langen Fäden. Hat langsame Eigenbewegung. Wird nach Gram entfärbt.

Oberflächencolonien auf Gelatine dünn, graugelb, im durchfallenden Licht bläulich, die grösseren oft nicht völlig rund. Bei einer Grösse von 1 mm sind sie leicht eingesenkt. Tiefe Colonien punktförmig. Vergrössert sind tiefe und kleinere aufliegende Colonien graugelb, feinkörnig, mit glattem, dünnen Rande; grössere aufliegende haben chagrinirte Oberfläche und gleichwie von dünnen, stumpfen Stacheln in mehrfachen Schichten gebildeten Rand. In Gelatinestich reichliches Oberflächenwachsthum; nach einiger Zeit tritt Verflüssigung ein und schreitet horizontal langsam weiter. Auf der flüssigen Gelatine schwimmt ein dicker, weissglänzender Belag. Auf Agarplatte aufliegende Colonien rund, runderhaben, bläulich, tropfenähnlich; vergrössert feinkörnig, in der Mitte gelb, gegen den glatten Rand zu mehr und mehr farblos. Tiefe Colonien punktförmig; vergrössert gelb, oft wetzsteinförmig, glattrandig, feinkörnig. Auf schrägem Agar anfangs dünner, durchscheinender, später mehr dicker, grauweisser, feuchter, weicher Belag, der fast die ganze Oberfläche überzieht. Auf alkalischer Kartoffel schmutziggelber, feuchter Belag. Bouillon wird leicht getrübt mit fadenförmigem Bodensatz. Milch wird leicht angesäuert, gerinnt aber erst beim Aufkochen.

Ist gegen Kochsalz ziemlich empfindlich; im Nährboden mit 10% Kochsalz ist das Wachsthum völlig aufgehoben, wächst aber bei 5% noch gut.

Bildet Schwefelwasserstoff und sehr wenig Gas aus Traubenzucker, aber scheint nicht Indol in Peptonbouillon zu bilden.

Stimmt ziemlich gut mit Bacillus guttatus Zimm.[1]) überein.

Nr. XIII. Die Zellen des Hefepilzes sind immer klein, 2,5—5,0 μ, gewöhnlich rundlich, besonders fast immer in flüssigen Nährmedien. Auf Thonblock werden sie bisweilen läng-

1) Zimmermann, W., a. a. O.

lich. Die Grösse wird nicht bedeutend von verschiedenen Salzconcentraten des Nährbodens beeinflusst. Der Zellkörper, der ziemlich homogen ist, zeigt mehr oder weniger central ein helleres Feld, in dem ein stark lichtbrechender Tropfen zu sehen ist. Sehr deutlich tritt diese Structur in Präparaten aus Culturen auf Eierscheiben oder Thonblöcken hervor. In Präparaten von den letzteren findet man zuweilen 5—6 Tropfen in grossen Riesenzellen. Nach Behandlung mit Aether und Alkohol, Chloroform oder Essigsäure sind sie noch zu sehen, wenn auch nicht völlig so deutlich wie früher. Von Osmiumsäure wird der Tropfen, von einem kleinen Pünktchen abgesehen, nicht geschwärzt, und bei Färben mit Anilinfarben markirt er sich nicht von dem übrigen Zellkörper. Im hängenden Tropfen sind die Zellen zu Haufen von 3—6 Individuen zusammengeballt.

Die Colonien auf Gelatine sind grauweiss, feingekörnt, die jüngeren auch bei schwächeren Vergrösserungen Coccencolonien sehr ähnlich. Auf schräger Würzegelatine bildet die Hefe ein breites, grauweisses, bisweilen schwach quergefurchtes Band, das oft eine mediale Erhabenheit zeigt. In Gelatinestich bilden sich nie Aestchen. Erst nach längerer Zeit tritt unbedeutende Verflüssigung ein. In Bierwürze grosser Bodensatz, kein Häutchen. Die Hefe verträgt Salzzusatz zu der Würze bis 20%. Doch verzögert sich die Entwickelung der Hefe in demselben Maasse, wie der Salzgehalt vermehrt wird. Bei 20% ist noch nach drei Wochen der Bodensatz nicht sehr gross. Wachsthum ist bei + 25° C. und bei Zimmertemperatur fast gleich gut. Culturen auf verschiedenen Nährböden entwickeln alle einen süsslichen Geruch.

Auf Eierscheiben wächst die Hefe ziemlich gut und bildet einen rein weissen, erhabenen, feuchten Belag. Die Consistenz oder Farbe der Scheibe wird nicht geändert, und die Cultur ist nicht eingesenkt. In rohen Eiern gezüchtet, vermehrt sie sich im Allgemeinen ziemlich langsam, und nach drei Wochen sind noch keine besonders hervortretenden Veränderungen des Eierinhaltes hervorgerufen. Auf Glycerinagar und Kartoffel grauweisser Belag. Milch wird dem Aussehen nach nicht verändert, aber die Reaction wird leicht alkalisch. Die Hefe

vergährt keine Zuckerart, weder bei Zimmertemperatur noch bei 25° C. und reducirt nicht Kalisalpeter. Alle Versuche von Sporbildungen auf Thonblöcken und auf Agar nach Beijerinck's Methode[1]) bei Zimmertemperatur und bei 25° C. sind misslungen.

Da diese Hefe sich also völlig unfähig zeigte, Zucker zu vergähren, lag es nahe, zu denken, dass sie vielleicht anstatt dessen proteolytische Eigenschaften besässe; sind doch schon einige Angaben über das Vorkommen solcher Fermente unter den Hefen zu finden.[2]) Als es sich erwiesen hatte, dass Zusatz von 2 bis 4% Borsäure zu Fleisch jede Entwickelung von Spaltpilzen völlig hemmte, das Weiterkommen des Hefepilzes aber nicht bedeutend verhinderte, so gab es eine Möglichkeit, den von diesem Organismus hervorgerufenen Zersetzungsproducten des Fleisches nachzuforschen. Von Rindfleisch wurden mit 4proc. Borsäure mehrere Proben hergestellt. Nach 30 Tagen wurde Prüfung auf Pepton gemacht, aber mit negativem Resultat. Auch nach längerer Zeit ausgeführte Prüfungen ergaben denselben Ausfall. Andere Proben wurden benützt, um Leucin und Tyrosin nachzuweisen. Das Fleisch wurde mit der mehrfachen Menge Wassers gemischt, gekocht und filtrirt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedampft und einige Tage an einen kühlen Ort gestellt. Nach dieser Zeit waren immer reichlich weisse, kreideähnliche Körnchen zu finden, theils auf dem Boden des Gefässes, theils im Häutchen, das sich auf der Oberfläche bildete.

Wurden diese Körnchen gewaschen und umcrystallisirt, so zeigten sie das charakteristische Ansehen des Tyrosins. Sie ertrugen mässiges Erwärmen, lösten sich leicht in Salzsäure und Ammoniak. Nach Abdampfen des Ammoniaks waren die Crystalle beim Erkalten leicht wieder zu bekommen. Nachdem sie später weiter gereinigt waren, wobei Herr Professor C. Th. Mörner mir freundlichst geholfen hat, wurden auch Piria's Probe und

1) Beijerinck, M. W., Ueber Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen etc. Centralbl. f. Bact., II. Abth, Bd. IV, S. 662.

2) Siehe H. Will, Studien über die Proteolyse durch Hefen. Centralbl. f. Bact., II. Abth., Bd. IV, S. 753.

die Probe mit Millon'schem Reagens mit positivem Ausfalle gemacht.

Crystalle von Leucin wurden nie gefunden, obwohl das Filtrat mehrmals sehr stark eingedampft worden war. Dieses Spaltungsproduct kommt wahrscheinlich nicht oder wenigstens nicht reichlich vor.

Nach Beijerinck's[1]) Untersuchungen über Octosporushefe hängt die Absonderung des proteolytischen Enzyms dieses Pilzes, das dem Trypsin nahestehen soll, mit dem Absterben der Hefe zusammen. Ob es sich auch hier so verhält, ist nicht leicht zu entscheiden, aber es ist nicht sehr wahrscheinlich, weil eine grössere Menge Hefen kaum abgestorben sein kann, da der Höhepunkt des Wachsthums der Hefe noch lange nicht nach 30 Tagen eingetreten ist. Auch Will[2]) tritt zufolge seiner Untersuchungen über die Proteolyse durch Hefen der Ansicht Beijerincks nicht bei, sondern ist der Meinung, dass dieser Vorgang eine Function nicht absterbender und sich auflösender, sondern normaler Zellen sei, hervorgerufen durch Mangel an gelöster, speciell stickstoffhaltiger Nahrung und auch an Sauerstoff. Dies stimmt auch besser mit den neuesten Ermittelungen von E. Buchner.

Auf Grund der unbedeutenden Grösse, der Unfähigkeit Sporen zu bilden und Zucker zu vergähren, ist die Hefe wahrscheinlich zu der hauptsächlich durch negative Merkmale gekennzeichneten Gattung Torula zu rechnen. Sie ist sicherlich mit der von Wehmer aus Häringslake isolirten »Salzhefe« identisch und stimmt völlig mit einem Stamm überein, den ich aus Häringslake gezüchtet habe. Wahrscheinlich ist Fleisch für sie ein sehr guter Nährboden und sicherlich viel besser als Fisch. In Fisch mit Borsäure wächst sie gar nicht; ihr Wachsthum in Fleisch mit 4 proc. Borsäure ist dagegen sehr ausgiebig. In den 15 proc. Kochsalzproben trat die Hefe auch viel früher im Fleische als im Fisch auf.

1) Beijerinck, M. W., Weitere Beobachtungen über die Octosporushefe. Centralbl. f. Bact., II. Abth., Bd. III, S. 521.

2) a. a. O.

Es scheint mir sehr wahrscheinlich, dass die Hefe dazu beiträgt, den charakteristischen Geruch alten Pökelfleisches und alter Pökellake hervorzurufen. Dieser erinnert theils an den süsslichen Geruch der Culturen und jüngeren Fleischproben, theils an den von älteren Fleischproben entweichenden Geruch nach fauler Presshefe.

Das Erste, was unbedingt in die Augen springen muss, ist, dass auch bei hohen Salzconcentrationen eine nicht unbedeutende Vegetation von Mikroorganismen vorkommt. Wenn man bedenkt, dass schon bei ziemlich niedrigem Salzzusatz Plasmolyse eintritt und die Bewegung cilientragender Organismen aufhört, konnte man a priori annehmen, dass oberhalb der Salzconcentration, welche diese Veränderungen hervorruft, eine lebhaftere Entwickelung von Organismen im Allgemeinen nicht vorkommt, wenn auch, wie mehrere Untersuchungen gezeigt haben, die Lebensfähigkeit der Keime noch nicht vernichtet wird. Im Gegentheil findet aber eine reichliche Mikrobienvegetation und ein reger Umsatz des Nährsubstrates weit über diese Grenze hinaus statt. Ja, beinahe so lange wie die hier berücksichtigten Medien überhaupt noch Kochsalz zu lösen im Stande sind, ist das Fortkommen von Organismen nicht völlig ausgeschlossen, wenn auch die Vegetation nahe dem Sättigungspunkte sehr bescheiden wird. Das Kochsalz ist in Folge dessen ein sehr schwaches bacterienhemmendes Mittel und steht in dieser Hinsicht vermuthlich mehreren anderen verhältnismässig ungiftigen Salzen nach. Wladimiroff[1]) hat nämlich bei Untersuchung mehrerer Salze der Gruppen Sulfate, Nitrate, Bromide und Chloride gefunden, dass im Allgemeinen die letzteren in den stärksten Concentrationen ohne Schädigung der Eigenbewegung vertragen wurden.

In dieser Resistenz gegen den schädlichen Einfluss des Kochsalzes tritt jedoch ein sehr bedeutender Unterschied zwischen Coccen und Stäbchen hervor. Denn während die letzteren in Proben mit einem Kochsalzgehalt über 12% in der Regel nicht fortkommen, ist die Entwickelung der ersteren bei beinahe der

1) Wladimiroff, A., Biologische Studien an Bacterien. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. X, 1891, S. 101.

doppelt grösseren Concentration von 23% wenigstens im Fleisch noch nicht völlig ausgeschlossen. Um zu untersuchen, ob diese Resistenz gegen Kochsalz nur einigen, vielleicht in eingesalzenen Waaren regelmässig vorkommenden Stäbchen und Coccen zukomme, habe ich verschiedene Organismen, darunter mehrere Fäulniserreger, in Bouillon mit 5, 10 und 15% Kochsalz überimpft. Das Resultat geht aus der folgenden Tabelle hervor und stimmt mit früheren Angaben von de Freytag[1]) und Stadler[2]) in Betreff derjenigen Bacterien, die sie untersucht hatten, gut überein.

Organismen	5% Kochsalz	10% Kochsalz	15% Kochsalz
Bacterium coli commune.	1 Tag. Gutes Wachsthum, Trübung und Bodensatz.	2 Tage. Kein Wachsth. 8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium typhi.	1 Tag. Mässig. Wachsthum, geringe Trübung, Bodensatz.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium punctatum.	1 Tag. Ziemlich gutes Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium vulgare (Proteus).	1 Tag. Gutes Wachsthum, starke Trübg.	2 Tage. Unbedeutender Bodens., der nicht weiter vermehrt wird.	
Bacterium fluoresc. liquefac.	2 Tage. Mässiges Wachstum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium fluoresc. non liqu.	2 Tage. Mäss. Wachsthum, Bouillon leicht getrübt.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacterium pyocyan.	1 Tag. Kein Wachsth. 2 Tage. Mäss. Wachsthum, Häutchen, Bodensatz, fast keine Farbenproduction. 6 Tage. Reichliches Wachsthum, starke Fluorescenz.	8 Tage. Kein Wachsthum.	

1) Freytag, de, C. J., a. a. O.
2) Stadler, E., a. a. O.

Organismen	5% Kochsalz	10% Kochsalz	15% Kochsalz
Bacterium Zopfii.	2 Tage. Mässiges Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacillus Anthracis.	1 Tag. Kein Wachsth. 2 Tage. Schwaches Wachsthum, geringer schleimig. Bodensatz, der kaum weiter zunimmt. Die Stäbchen plump, geschwollen, segmentirt u. färben sich schlecht.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
B. mesenteric. ruber.	1 Tag. Gutes Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacillus mesentericus vulgat. (Laborat.-Stamm; cfr. Nr. VIII S. 25)	1 Tag. Gutes Wachsthum. Trübung.	2 Tage. Nicht unbedeutend. Wachsth. Bodensatz. Keine Trübung. 6 Tage. Zieml. reichlicher, stark zäher Bodens. Bouillon klar.	
Bacillus subtilis.	1 Tag. Gutes Wachsthum. 6 Tg. Starkes, dickes Häutchen u. mässiger Bodensatz.	1 Tag. Sparsames Wachsthum. 2 Tage. Gutes Wachsthum mit Trübung u. Bodensatz. 6 Tage. Dünnes Häutchen, Bodensatz reichlicher. 14 Tage. Starkes Häutchen.	1 Tag. Kein Wachsth. 6 Tage. Gutes Wachsthum, dicker, zäher Bodensatz. Die Stäbch. sind oft lang, ziemlich schmal u. unbewegl., aber auch kurz und beweglich. 14 Tage. Noch kein Häutchen.
Bacillus Megatherium.	1 Tag. Gutes Wachsthum, Bodensatz Keine Trübung.	2 Tage. Kein Wachsthum. 8 Tage. Kein Wachsth.	
Bacillus tetani.	2 Tage. Kein Wachsth. 4 Tage. Schwaches Wachsthum.	8 Tage. Kein Wachsthum.	
Bacillus Anthracis sympt.	2 Tage. Schwaches Wachsthum. 4 Tg. Stark. Wachsth. mit reichl. Gasbildg. u. charakter. Geruch.	8 Tage. Kein Wachsthum.	

Organismen	5% Kochsalz	10% Kochsalz	15% Kochsalz
Vibrio cholerae.	2 Tage. Ziemlich gutes Wachsth., zusammengeklebte Haufen auf der Oberfläche. 4 Tg Dick. Häutchen.	4 Tage. Kleine Klümpchen auf der Oberfläche, die sich weiter nicht vermehren.	
Staphylococcus pyogenes aureus.	1 Tag. Starkes Wachsthum, Trübung und zäher Bodensatz.	1 Tag. Beinahe so gutes Wachsthum wie in 5 proc. Bouillon.	1 Tag. Schwaches Wachsthum, Trübung und unbedeutender, zäher Bodensatz. 6 Tage. Gutes Wachsthum, Trübg. u. reichlicher, zäher, fadenziehender Bodensatz.
Staphylococcus pyog. albus.	1 Tag. Starkes Wachsthum. Starke Trübung und Bodensatz.	1 Tag. Die Cultur fast gleich gut entwickelt wie m. 5proc. Kochsalz.	4 Tage. Mäss. Wachsthum, Trübung und geringer Bodensatz.
Streptococ. pyogenes.	8 Tage. Kein Wachsthum.		
Mikrococcus bicolor.	1 Tag. Starkes Wachsthum.	2 Tage. Starkes Wachsthum mit Trübung u. Bodensatz.	2 Tage. Gutes Wachsthum, Trübung und Bodensatz.
Mikrococcus tetragenus.	1 Tag. Starkes Wachsthum. Bodensatz.	2 Tage. Ziemlich gutes Wachsth., Bodensatz und Wandbelag. 6 Tg. Reichl. Bodens.	4 Tage. Mäss. Wachsthum, schwache Trübung, Bodensatz.
Saccharomyces X.	5 Tage. Mässiges Wachsthum. Zucker wird langsam vergohren.	5 Tage. Sehr geringes Wachsthum.	20 Tage. Wahrscheinlich hat ein sehr geringes Wachsthum stattgefunden.

Hiezu ist zunächst zu bemerken, dass aus Culturen in Bouillon mit 5, 10 oder 15% Kochsalz unter Benützung von Fixirungsmitteln (z. B. Jodalkohol) verfertigte Präparate keine Plasmolyse der Zellen zeigen. Also muss diese Veränderung, die nach Fischer[1]) schon bei einem Kochsalzgehalt von 2,5% eintritt, gerade entgegen den Angaben dieses Forschers in den

1) Fischer, A., Vorlesungen über Bacterien. Jena 1897, S. 8.

Salzlösungen zurückgegangen sein, wenn man nicht annehmen will, dass die plasmolysirten Zellen in diesem Zustande vermehrungsfähig sind und bei der Vermehrung nicht plasmolysirte Individuen erzeugen. Ein Zurückgang der Plasmolyse ist von Wladimiroff[1]) auch constatirt worden, als er beobachtete, dass nach einiger Zeit eine Restitution der durch die Plasmolyse gestörten Beweglichkeit stattfand. Uebrigens kann die Plasmolyse keine die Vitalität der Zellen sehr schädigende Veränderung sein, denn die untersuchten Organismen kommen doch alle in Bouillon mit 5% Kochsalz fort, obwohl sie Plasmolyse überstanden haben müssen. Jedenfalls ist es wahrscheinlich, dass ein Theil der in Kochsalzbouillon übertragenen Individuen zu Grunde geht. Stadler[2]) hat nämlich bewiesen, dass die Zahl der in 7 proc. Kochsalzbouillon eingeführten Bacterien in der nächsten Zeit nach der Ueberimpfung einer nicht unbedeutenden Verminderung unterliegt. Dies steht übrigens in Einklang mit Ergebnissen von Metschnikoff, Baumgarten (Jetter und Walz), Buchner, Bail u. A., welche bei Gelegenheit von Versuchen über Bactericidie durch Serum und Salzlösungen gewonnen wurden.

Ein Salzzusatz von 10% genügt aber, um weiteres Wachsthum aller dieser Stäbchen — Bacillus subtilis und vulgatus ausgenommen — zu verhindern. In Folge dessen erscheint es auch sehr wahrscheinlich, dass auch bei der Conservirung immer nur einige bestimmte Arten bei der Salzconcentration von 10% und darüber vegetiren können. Bemerkenswerth ist auch, dass diese beiden Bacillenarten nicht Indolbildner sind, was vom Conservirungsstandpunkte von Bedeutung sein kann. Auch der Unterschied zwischen Coccen und Stäbchen hat sich in Bezug auf die Empfindlichkeit gegen Kochsalz durch diese Versuche bestätigt. Nur Streptococcus pyogenes hat sich gegen Kochsalz sehr empfindlich erwiesen, sein Wachsthum aber ist auch in gewöhnlichen Nährböden ziemlich beschränkt.

1) Wladimiroff, A., a. a. O., S. 107.

2) Stadler, E., a. a. O., S. 59.

Das Auftreten der untersuchten Stoffwechselproducte ist in der folgenden Tabelle anschaulich gemacht.

I. Fisch.

Kochsalz	Coccen (Hefen)	Stäbchen	Alkalische Reaction	Ammoniak	Schwefelwasserstoff	Pepton	Buttersäure	Indol	Phenol
Procent	Tage								
5	2	2	4	7	6	10	12	16	55
8	2	14	6	6	14	11	23	29	75 (Spur)
10	2	26	10	10	28	30	23	68	—
12	2	52	12	12	58	58	52	75	—
15	14	—	55	—	—	75 (Spur)	75	—	—
18	15	—	60	—	—	—	75	—	—
20	50	—	—	—	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—	—	—	—	—

II. Rindfleisch.

Kochsalz	Coccen (Hefen)	Stäbchen	Alkalische Reaction	Ammoniak	Schwefelwasserstoff	Pepton	Buttersäure	Indol	Phenol
Procent	Tage								
5	2	2	7	7	6	15	10	26	—
8	2	9	9	9	12	20	17	75	—
10	2	36	9	12	40	30	20	75 (Spur)	—
12	4	—	15	20	—	26	26	—	—
15	7	—	20	75	—	35	45	—	—
18	10	—	—	—	—	75 (Spur)	75	—	—
20	32	—	—	—	—	—	—	—	—
23	29	—	—	—	—	—	—	—	—

Schwefelwasserstoff, Indol und Phenol, welche die eigentliche Fäulnis charakterisiren, sind immer auf die Wirksamkeit der Stäbchen zurückzuführen. Zuerst tritt Schwefelwasserstoff auf und zwar stets dann, wenn die Stäbchenvegetation begonnen hat. Wahrscheinlich ist dies dadurch zu erklären, dass ein Theil des Schwefels in dem Eiweisse sehr wenig fest gebunden und also leicht abspaltbar ist. Wenn man das Vorkommen, auch kleinerer Mengen Schwefelwasserstoff in einem Nahrungsmittel

für unzulässig halten würde, was vielleicht nicht allgemein zugegeben wird, so bedürfte man, unter der Voraussetzung, dass Salpeter nicht zugesetzt ist, eigentlich nur des Nachweises von Stäbchen, um die Unbrauchbarkeit desselben zu constatiren. Phenol kommt in der Regel nur in Fischproben von den zwei niedrigsten Concentrationsgraden vor und auch da erst nach langer Beobachtungszeit. Einmal wurde bei einem Destillate von einer Fischprobe mit 10% Kochsalz ein mässiger Niederschlag von Tribromphenol erhalten, aber das scheint Ausnahme zu sein. Die Anwesenheit von Phenol muss also als Zeichen einer sehr weit gegangenen Zersetzung angesehen werden. Auch Indol trat, ausser bei der Fischprobe mit dem niedrigsten Salzgehalte, relativ spät auf, und oft waren die Proben lange vorher übelriechend (z. B. Probe Nr. 1), ehe Indol nachgewiesen werden konnte. Der Nachweis des Indols eignet sich also nicht, um das Eintreten der beginnenden Fäulnis objectiv festzustellen.

Die anderen Zersetzungsproducte, Ammoniak, Buttersäure und Pepton, kamen auch oberhalb der Grenze, bei welcher die Fäulnis aufhörte, vor, und bis zu einer Salzconcentration von 15% in bisweilen nicht allzu kleinen Mengen. Oberhalb dieses Procentgehaltes waren sie dagegen nicht constant, konnten aber doch ab und zu nachgewiesen werden. Die Anwesenheit dieser Substanzen ist gewiss von keiner grossen Bedeutung in dem Sinne, als ob sie eine Minderwerthigkeit des Nahrungsmittels bedingen würden, obwohl die beiden ersten für den menschlichen Organismus werthlos sind. Das Interesse an ihrem Vorkommen liegt fast mehr darin, dass sie anzeigen, dass noch bei diesem Salzgehalt nicht unbedeutende Veränderungen des Substrates stattfinden. Die Producte dieser Veränderungen kennen wir nur unvollständig, und vielleicht sind dieselben nicht alle so unschädlich wie die erwähnten. Weiter scheint es auch nicht ausgeschlossen zu sein, dass Producte entstehen können, welche den Geschmack, Geruch und andere Eigenschaften des Nahrungsmittels verändern.

Zwischen den Fisch- und Fleischproben konnten einige Verschiedenheiten festgestellt werden. Um die eigentliche Fäulnis

zu verhindern, war beim Fisch stets ein grösserer Salzzusatz (12%) nöthig als beim Fleisch, und in diesem ging bei der Beobachtungsdauer von $2^1/_2$ Monaten die Zersetzung niemals so weit, dass Phenol nachzuweisen war, welches in den beiden Fischproben mit dem niedrigsten Kochsalzgehalte constant auftrat. Auch Indol wurde im Fische entschieden schneller als in den entsprechenden Concentrationen von Fleisch gebildet. Dagegen war, so weit man nach Deckglastrockenpräparaten beurtheilen konnte, die Vegetation von Coccen und Hefe bei den höchsten Concentrationen in den Fleischproben oft reichlicher als in denen mit Fisch und trat auch regelmässig früher auf.

Von den aus den Proben gezüchteten Organismen sind nur die, welche zahlreich und constant vorkommen, beschrieben. Die Isolirung der Coccen und der Hefe hat keine Schwierigkeiten geboten, die Züchtung der Stäbchen aber war aus allen Proben, die mehr als 5% Kochsalz enthielten, mit grosser Mühe verbunden und ist theilweise nicht befriedigend gelungen. Aus Fleischproben mit 10% Kochsalz ist kein Stäbchen gezüchtet worden, obwohl eine grosse Menge Versuche diesbezüglich angestellt wurden.

Aus allen Proben ohne Ausnahme sind nur aërobe oder facultativ anaërobe Organismen isolirt, und auf den mehrfach bei Sauerstoffausschluss angelegten Platten gingen nur solche Keime auf, die auch in den aëroben zu finden waren. Es muss auch bemerkt werden, dass in den anaëroben Platten die Zahl der Colonien ungemein viel geringer war als in den aëroben. Von den isolirten Organismen wächst bei Ausschluss von Sauerstoff nur einer, Nr. 5, besser und einer, Nr. 6, gleich gut wie bei Zutritt des Sauerstoffs. Das Vorkommen obligat anaërober Organismen in diesen Versuchsproben scheint also auszuschliessen zu sein. Mehrere der strengen Anaërobien vermehren sich in Reincultur in Nährböden mit 5% Kochsalz. Ihre Abwesenheit in den Kochsalzproben hängt sicher davon ab, dass sie unter diesen Bedingungen im Kampfe mit den aëroben unterliegen. Andere sind dagegen, betreffend Kochsalz, schon an und für sich sehr empfindlich, z. B. Bacillus botulinus, dessen Wachsthum in

Traubenzuckerbouillon mit 2% Kochsalz völlig aufgehoben ist.[1]) In Proben mit niedrigerem Salzgehalt als 5% habe ich dagegen mehrmals obligate Anaërobien gefunden, bisweilen fast nur diese Stäbchen und in grosser Zahl.

Da die Coccen im Allgemeinen gegen Kochsalz sehr wenig empfindlich sind, erscheint es sonderbar, dass in den Proben mit höherem Salzgehalt gewöhnlich nur zwei Arten zu finden waren. Entweder besitzen diese beiden eine noch grössere Resistenz gegen Kochsalz, oder sie sind in der äusseren Natur so ungemein reichlich vorhanden, dass sie den weitaus grössten Theil der Verunreinigung des Rohmaterials mit Organismen bilden. Um diese Frage zu entscheiden, wurden folgende Versuche angestellt. Aus dem Innern eines grösseren Fleischstücks wurde, nachdem die Oberfläche mit einem geglühten und noch heissen Messer sterilisirt war, mit sterilen Instrumenten Fleisch ausgeschnitten und zerkleinert. Aus dem Fleisch wurden in gekochten Glasgefässen mit sterilisirtem Kochsalz zwei 15 proc. Proben hergestellt. Zu der einen wurden 5 ccm Cultur von Staphylococcus pyogenes aureus in 15 proc. Kochsalzbouillon zugesetzt. Die zweite Probe wurde auf dieselbe Weise mit Bacillus subtilis inficirt.

17. Versuch.

Fleisch mit 15% Kochsalz versetzt, mit Staphylococcus pyogenes aureus inficirt. 20 Tage. Die Farbe rothbraun, Geruch süsslich, aber auch an Käse erinnernd. Die Oberfläche weich, von einer Schicht von Hefen bedeckt. In Deckglaspräparaten reichlich Coccen, weniger zahlreich Hefen. 36 Tage. Auf Agar sind Nr. 3 und einige Colonien von M. bicolor aufgegangen.

18. Versuch.

Fleisch mit 15% Kochsalz versetzt mit Bacillus subtilis. 20 Tage. Fest, rothbraun, der Geruch kaum geändert, auf der Oberfläche Schimmel. Deckglaspräparate zeigen wenige lange, schlanke Stäbchen, die nicht oder sehr schlecht gefärbt werden. Auch einige Coccen. 36 Tage. Auf Platte sind Colonien von Nr. 3 zahlreich und Nr. 4 weniger zahlreich aufgegangen, aber keine Stäbchen. 45 Tage. Geruch dumpfig, auf der Oberfläche Häutchen von Schimmel und Coccen. In Deckglaspräparaten reichlich Coccen, wenige Hefen, einzelne fast ungefärbte Stäbchen.

Obwohl in beiden Fällen die Proben möglichst aseptisch hergestellt waren, und eine grosse Einsaat von Organismen

1) Ermengem, a. a. O., S. 44.

gemacht war, so waren doch nach 35 Tagen dieselben Organismen wie in anderen Proben mit gleich grossem Salzgehalt zu finden. Daraus kann man schliessen, dass diese Organismen, welche von Anfang an nur in geringer Zahl vorhanden gewesen sein konnten, ein grosses Anpassungsvermögen an Kochsalz besitzen,

Die in den Versuchsproben beobachteten Zersetzungen lassen sich nicht alle ohne weiteres durch die Eigenschaften der gezüchteten Organismen erklären. Die aus den mehr als 5% Kochsalz enthaltenden Proben gezüchteten Stäbchen bilden in Peptonbouillon kein Indol, und die Schwefelwasserstoffentwickelung aus den Fischproben mit 10 und 12% Kochsalz war weit intensiver, als dass man sie allein auf die Wirksamkeit der langsam Schwefelwasserstoff bildenden Stäbchen Nr. IX und X zurückführen könnte. Es ist zu bedenken, dass man nicht berechtigt ist, die Befunde, welche in Nährmedien mit Pepton als Eiweissstoff erhalten werden, direct mit denen bei anderen Eiweissstoffen und insbesondere bei nativem Eiweisse zu vergleichen. Schon die verschiedenen Peptone unterscheiden sich nach Petri und Maassen[1]) betreffs der Schwefelwasserstoffbildung nicht unbedeutend von einander. Schon vorher hatte Holschewnikoff[2]) beobachtet, dass verschiedene Eiweissarten Schwefel als Schwefelwasserstoff in ungleicher Menge abgeben. Es scheint deshalb auch wahrscheinlich, dass die Schwefelwasserstoffentwickelung dieser Stäbchen unter übrigens ähnlichen Bedingungen grösser sein kann in Fisch- und Fleischproben als in den Culturen mit Witte'schem Pepton. Betreffend die Indolbildung ist dagegen meines Wissens nichts bekannt, was die Annahme stützen könnte, dass Indolbildung aus nativem Eiweisse leichter vor sich gehe als aus Pepton. Man könnte also die Indolbildung auch einem nicht gezüchteten Organismus zuschreiben.

Die Befunde in den Deckglaspräparaten aus den Proben Nr. 4 und 9 konnte man so deuten, dass auch höhere Organismen

1) Petri, R. J., und Maassen, A., Beiträge zur Biologie der krankheitserregenden Bacterien etc. Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amte, Bd. VIII, S. 347.

2) Holschewnikoff, Ueber die Bildung von Schwefelwasserstoff durch Bacterien. Fortschritte d. Medicin, 1889, S. 201.

in ihnen vorkommen. In der That habe ich aus zwei Fleischproben mit 18 und 23% Kochsalz eine Actinomycesart (Act. albus Gasp.?) gezüchtet, welche Schwefelwasserstoff und wahrscheinlich kleine Mengen Indol bildet. Auf den mehrmals angelegten Platten war dieser Pilz immer zahlreich aufgegangen, während nur wenige Colonien von anderen Organismen zu finden waren. Der Pilz hat sich in den Proben offenbar vermehrt. Der von Lachner-Sandoval[1]) eingehend studierte Act. albidoflavus Gasp. wächst in 6proc. Kochsalzbouillon ganz üppig, und bei 16% findet noch eine schwache Entwickelung statt. Es wäre also denkbar, dass die verzweigten Fäden der Proben Nr. 4 und 9 wirklich höhere Organismen vertreten, welche auf unseren gewöhnlichen Nährböden sich nicht züchten lassen. Doch muss bemerkt werden, dass einzelne Momente auf eine andere Deutung hinweisen. Bei dem ersten Auftreten der Stäbchen in der Probe waren solche verzweigte Formen nicht zu sehen, sie vermehrten sich aber, so dass sie zuletzt die überwiegende Mehrzahl bildeten. Sobald sie aber recht zahlreich geworden waren, gelang es nicht weiter auf den angelegten Platten die Stäbchen zu bekommen, welche früher immer, wenn auch nicht zahlreich, aufgegangen waren. Dieser Umstand würde sich erklären lassen, wenn man annähme, dass diese Verzweigungen Involutionsformen sind, gleichwie sie z. B. bei Bacillus radicicola vorkommen.

Ueber das Vorkommen der verschiedenen Organismen geben die folgenden Tabellen Uebersicht.

Fisch.

Tage	5%	8%	10%	12%	15%	18%	20%
6—12	1, 2, 3 7	1, 2	1, 2	2, 3	3, 4 13		
30	2, 5 7	1, 2, 3	2, 3 9	3, 4	3, 4 13	3, 4 13	
50	2, 5 7, 8	2, 3, 5, 6 8	3, 4 10	3 11	3, 4 13		
75		2, 3, 5, 6 10	3, 4, 6 10	3, 4, 5 10, 11	3, 4 13	3, 4	3, 4

1) Lachner-Sandoval, V., Ueber Strahlenpilze. Strassburg 1898, S. 54.

Fleisch.

Tage	5 %	8 %	10 %	12 %	15 %	18 %	20 %
6—12	3, 4 7, 12	1, 2	1, 2	1, 3	4 13		
30	6 7, 9	1, 2, 6	1, 2				
50	6 9	1, 2, 6	1, 2, 3, 6	1, 3	3, 4, 6	3, 4	4
75	6 9	1, 6 9	1, 3, 6	3, 6	3, 6		

Das nähere Studieren der Organismen hat als Resultat ergeben, dass die, welche die tiefstgehenden Zersetzungen hervorrufen, am meisten empfindlich gegen Kochsalz sind. Nicht nur dass, wie früher erwähnt wurde, die Stäbchen weit empfindlicher sind als die Coccen, sondern auch in diesen zwei Gruppen ist dasselbe Verhältnis zu beobachten. Bei dem niedrigsten Concentrationsgrade wachsen die energisch verflüssigenden Nr. 7 und 8, und auch Nr. 12 besitzt diese Eigenschaft, doch in geringerem Grade. Dagegen verflüssigt Nr. 9 sehr langsam, und Nr. 10 und 11 verflüssigen nicht oder fast nicht. Auch die Fähigkeit der Schwefelwasserstoffbildung nimmt auf dieselbe Weise ab. In artificiellen Nährböden mit Pepton bildet nur Nr. 7 Indol. Auch mehrere Coccen, z. B. Staphylococcus aureus, Streptococcus conglom. u. a. sind im Stande, aus Eiweiss Schwefelwasserstoff zu bilden, aber alle aus den Versuchsproben gezüchteten Coccen entbehren diese Eigenschaft. In den Proben mit höherem Salzgehalt wachsen überwiegend die beiden Coccen Nr. 3 und 4, welche keine oder sehr unbedeutende eiweisslösende Eigenschaften besitzen. Pepton war auch nicht oder erst nach längerer Zeit nachzuweisen. Zu ihren Zersetzungsproducten gehört auch die Buttersäure, und wahrscheinlich trägt sie bei, den Käsegeruch der Proben hervorzurufen. Auch gegen andere Schädlichkeiten scheinen die Fäulniserreger sehr empfindlich zu sein. Um sterilen Nährboden vom Fisch zu erhalten, ohne dass dieser völlig gekocht wurde, versuchte ich ihn durch discontinuirliches Erwärmen längere Zeit bei + 55 bis 60° C. zu

sterilisiren. Es gelang nie, sterilen Fisch zu bekommen, aber in den erwärmten Proben entstand kein übler Geruch, obwohl sie immer reichlich Stäbchen enthielten.

Unter den Zersetzungsproducten erwartete ich auch Trimethylamin zu finden. Deshalb wurden die Coccen und die Hefe in grösseren Mengen auf verschiedenen Nährböden, wie Fischbouillon, sterilisirtem Fisch und Kartoffelbrei, mit und ohne Zusatz von Kochsalz längere Zeit gezüchtet. Geruch nach Trimethylamin war aber nie zu bemerken. Nun sind freilich diese Nährböden von dem frischen Fische sehr abweichend, aber auch in den ursprünglichen Versuchsproben mit rohem Fisch trat dieser Geruch nicht auf. Allerdings scheint der Trimethylamingeruch nur den aus Salzwasserfischen hergestellten Conserven eigen zu sein. Es liegt am nächsten anzunehmen, dass gerade im Meerwasser irgend ein Organismus vorkommt, der die Eigenschaft der Trimethylaminbildung besitzt.

Ausser der allgemeinen entwickelungsverlangsamenden Wirkung und bei höheren Concentrationen der vollständigen Hemmung des Wachsthums der stärker eiweisszersetzenden Organismen gibt es noch eine Weise, auf welche eine fäulnishemmende Wirkung durch Kochsalz möglich wäre, nämlich, wenn es auf die Organismen so einwirkte, dass die Menge ihrer Zersetzungsproducte wesentlich herabgesetzt werden würde. Ich habe mehrere Versuche angestellt, um zu sehen, ob eine solche Herabsetzung stattfinde.

Auf gewöhnliche Weise dargestellte Gelatine wurde in zwei Theile getheilt, und dem einen noch 5% Kochsalz zugesetzt. Diese Gelatine enthielt also 5,5% und die andere 0,5% Salz. Mit je 5 ccm dieser Gelatinen wurden gleich weite Eprouvetten beschickt, wodurch gleich hohe Gelatineschichten entstanden. In diesen sterilisirten Gelatinen wurden Stichculturen von mehreren verflüssigenden Mikroorganismen angelegt, und zwar von jedem mindestens drei Culturen, sowohl in gewöhnlicher als in Salzgelatine. Um die Schnelligkeit der Verflüssigung vergleichen zu können, war es nöthig, ungefähr gleich grosse Mengen Bacterien in die Gelatine zu übertragen. Deshalb wurde das Impf-

material nicht von Agar-, sondern aus Bouilloncultureu genommen, weil man für praktische Zwecke annehmen kann, dass einem in Bouillon eingetauchten Drahte immer ziemlich gleich grosse Mengen der Culturflüssigkeit anhaften. Die Gleichförmigkeit der Verflüssigung in allen Eprouvetten mit demselben Organismus und gleich grossem Salzgehalt bestätigte auch diese Annahme.

Die untersuchten Organismen haben sich sehr ungleich verhalten. Bacterium pyocyaneum und Vibrio cholera riefen in 3 Wochen keine Verflüssigung der 5,5 proc. Gelatine hervor. Das Wachsthum aber war auch so beschränkt, dass dieses Verhältnis ohne Weiteres dadurch erklärt werden konnte. Die Coccen Nr. 1 und 2 verflüssigten beide Gelatinearten völlig gleich rasch, und bei Bacterium prodigiosum war durch Kochsalz nur eine höchst unbedeutende Verzögerung zu beobachten. Einleuchtend ist also, dass die lösende Kraft auf Gelatine dieser drei Organismen durch Kochsalz in Concentration bis zu 5% nicht eingeschränkt wird. In den Culturen aller übrigen Organismen war die Verzögerung der Verflüssigung in Kochsalzgelatine sehr bedeutend. Bacterium punctatum rief in Salzgelatine erst am 14. und Proteus am 22. Tage eine gleich grosse Verflüssigung hervor wie die, welche in gewöhnlicher Gelatine am 2. Tag entstanden war. Dasselbe Verhältnis bestand auch die nächste Zeit, so dass für Bacterium punctatum nach 28 Tagen die Verflüssigung der Salzgelatine kaum grösser war als in gewöhnlicher Gelatine nach 4 Tagen. Daraus kann man aber noch keine Schlussfolgerungen ziehen, ohne zu wissen, wie viel der betreffende Organismus in seinem Wachsthum durch Salz beeinflusst wird, d. h. innerhalb welcher Zeit die Zahl der Individuen in Salzgelatine ebenso gross ist wie die Zahl derselben in gewöhnlicher Gelatine nach 2 Tagen. Um zu Aufschlüssen darüber zu gelangen, versuchte ich diese Wachsthumsverlangsamung in Bouillon mit gleich grossem Salzgehalt bei derselben, nicht sehr hohen Zimmertemperatur zu bestimmen. Dabei hat es sich schon am Anfange herausgestellt, dass, wenn die Einsaat in Bouillon ebenso gross wie in Gelatine genommen wurde, es

nach einem und noch weniger nach 2 Tagen nicht weiter möglich war, die Individuen in eine auch ziemlich kleine Oese der Cultur in gewöhnlicher Bouillon ohne colossale Verdünnungen zu zählen. Durch Verminderung der Einsaat und Anwendung grösserer Bouillonmengen, 25 ccm gelang es mir schliesslich, die Individuen in einer kleinen Oese der 24 Stunden alten Culturen in gewöhnlicher Bouillon zu bestimmen. Hier sollen nur zwei Versuchsserien mit Bacterium punctatum (Nr. 7) angeführt werden.

	1 Tag	2 Tage	3 Tage	$3^1/_2$ Tage	4 Tage
Gewöhnliche Bouillon,	1 006	—	—	—	—
kleine Oese	206 000	—	—	—	—
Bouillon mit 5% Kochsalz,	—	10	106	300	1 048
kleine Oese	—	236	5 200	—	500 000

Die Entwickelung geht also ungefähr viermal langsamer in Salzbouillon. Daraus ist man aber noch nicht berechtigt, zu folgern, dass die Individuen in Salzbouillon nach 8 Tagen ebenso zahlreich sind wie in gewöhnlicher Bouillon nach 2 Tagen. Indessen hat Stadler[1]), wie früher erwähnt ist, beobachtet, dass die in 7proc. Salzbouillon eingeführten Bacterien die nächste Zeit eine nicht unbedeutende Verminderung ihrer Zahl erfahren. Da diese Verminderung auf den 1. Tag fällt, so ist anzunehmen, dass die Vergleichung nach 8, bezw. 2 Tagen, der Salzbouillon günstiger ausfallen wird; ich meine also, dass in dieser nach 8 Tagen die Zahl der Organismen grösser sein dürfte, als in gewöhnlicher Bouillon nach 2 Tagen. Der Ausdruck für die Verlangsamung der Vermehrung in Bouillon kann jedoch nicht direct auf Gelatine übertragen werden, ohne dass man wüsste, dass die Vermehrung in Salzgelatine verhältnismässig nicht langsamer als in Salzbouillon weiter schreitet. Stadler[2]) hat aber in Bezug auf Bacterium coli und morbificans bovis gefunden, dass in 7proc. Salzbouillon bei + 37° C. eine vollständige Hemmung des Wachsthums eintreten kann, wenn die

1) Stadler, E., a. a. O., S. 59 u. ff.
2) Derselbe, a. a. O., S. 65 u. ff.

Einsaat genügend klein genommen wird, während bei grosser Einsaat gutes Wachsthum stattfindet. Daraus geht mit Wahrscheinlichkeit hervor, dass die Wachsthumsverzögerung verhältnismässig grösser sein dürfte bei einer kleinen Einsaat als bei einer grossen. Dieses habe ich auch betreffend Bacterium punctatum in 5,5proc. Kochsalzbouillon bei Zimmertemperatur bestätigen können. Nun war es aber aus den angeführten Gründen nöthig, die Einsaat in Bouillon viel kleiner zu machen als in Gelatine, und deshalb ist es nicht wahrscheinlich, dass die Individuen in 5% Salzgelatine nach 8 Tagen weniger zahlreich sein würden als in gewöhnlicher Gelatine nach 2 Tagen. Die Verflüssigung der Salzgelatine erreichte erst am 14. Tage dieselbe Grösse wie in gewöhnlicher Gelatine am 2. Tage. Die Verlangsamung der Verflüssigung betrug also 6 Tage mehr als die Verlangsamung der Vermehrung der Individuen nach der gemachten Schätzung zu beurtheilen. Meiner Ansicht nach deuten die Versuche, betreffend Bacterium punctatum (Nr. 7), dahin, dass Anwesenheit von 5proc. Kochsalz die Verflüssigung in Gelatine vermindert.

Durch die Eigenschaft der Hefe, in ihrem Wachsthum durch Borsäure nicht gehemmt zu werden, während das Weiterkommen der Stäbchen und Coccen völlig unterdrückt wird, war eine Möglichkeit gegeben, die Einwirkung des Kochsalzes auf die Tyrosinbildung der Hefe in rohem Fleische zu studiren.

19. Versuch.

Aus 500 g Rindfleisch wurde wie früher eine Probe mit 15% Kochsalz und 2% Borsäure verfertigt und mit einer grossen Menge Reincultur der Hefe gemischt. Als Controle wurde aus 200 g Fleisch eine Probe mit 2% Borsäure und Hefecultur angelegt. In Deckglaspräparaten aus beiden waren während der ganzen Beobachtungszeit nur Hefen zu finden. Auf der Oberfläche der Controlprobe aber entstanden einige Schimmelcolonien, welche weggenommen wurden. Nach 2 Monaten hatte die Probe deutlichen Geruch nach Pökellake, grauweisse Farbe, und die Oberfläche war sehr weich. Tyrosin war nicht nachzuweisen. Dagegen enthielt die nicht halb so grosse Controle ziemlich reichlich Tyrosin. Das Kochsalz hat offenbar die Tyrosinbildung der Hefe unterdrückt, obwohl die Vegetation derselben eine äusserst ausgiebige war. Es muss hier auch der deutliche Geruch nach Pökelfleisch der Probe bemerkt werden. Dieser Versuch beweist auch, scheint es mir,

dass der Geruch des Pökelfleisches gerade auf die Zersetzung dieser Hefe zurückgeführt werden muss, weil in der Probe keine anderen Organismen zu finden waren.

Nach diesen Untersuchungen zu urtheilen, scheint es sich so zu verhalten, dass einige Organismen durch Kochsalz eine Einschränkung in der Umsetzung des Nährmaterials erfahren können, während andere, wenigstens durch kleinere Mengen, nicht beeinflusst werden.

Betreffend den Ursprung der Verunreinigung des Rohmaterials mit Organismen, ist es eigentlich nicht nöthig, viel zu erörtern, weil Staub, Gebrauchsgegenstände, Wasser u. a. eine genügende Quelle dafür sind. Nur die Herkunft der Hefe ist näher untersucht worden. Wehmer[1]) hat angenommen, dass die Hefe der Häringslake aus Meerwasser stammt. Diese Annahme, dass sie ein Wasserbewohner sei, war schon deshalb nicht sehr wahrscheinlich, weil sie auch im Fleische immer und zahlreich zu finden war. Alle Versuche, die Hefe aus dem Prager Wasserleitungswasser zu bekommen, scheiterten auch. Dagegen war es mit keiner Schwierigkeit verbunden, das Vorkommen der Hefe in Staub nachzuweisen.

Aus Würzegelatine mit 10 proc. Kochsalz wurden auf gewöhnliche Weise Platten in Petri'schen Schalen angelegt. Nach dem Erstarren wurden sie auf dem Fussboden des Laboratoriums offen hingestellt, und mit einem Handtuch wurde Bodenstaub aufgewirbelt. Danach wurden sie zugedeckt und aufbewahrt. Nach 6 bis 7 Tagen waren kleine, graue, undurchsichtige Colonien aufgegangen, die, auch vergrössert, Coccencolonien äusserst ähnlich waren. Deckglaspräparate zeigten aber, dass es sich um Hefen handelte, und nach 2 bis 3 Wochen waren die Colonien denen der aus Fleisch und Fisch gezüchteten Hefe sehr ähnlich. Bei näherem Studium waren unterscheidende Merkmale zwischen den beiden Organismen nicht zu constatiren.

Dass die Hefe nicht aus Wasser stammt, sondern dass ihr Vorkommen auf Verunreinigung mit Staub und Schmutz zurück-

1) Wehmer, C., a. a. O.

zuführen ist, halte ich, wenigstens meine Proben betreffend, für bewiesen.

Ueber die Giftigkeit der Umsetzungsproducte, die von den in gesalzenen Waaren vegetirenden Organismen gebildet werden.

Wenn es nach dem Vorausgegangenen als festgestellt angesehen werden darf, dass in fast allen eingesalzenen Fisch- und Fleischwaaren eine mehr oder weniger bedeutende Vegetation von Organismen stattfindet, liegt die Frage nahe, ob die von ihnen erzeugten Producte unschädlich sind. Dass nach Genuss von derartigen Fischen acute Erkrankungen auftreten können, die dem Bilde des Botulismus völlig gleich sind, ist durch die Fälle von Cohn, Schreiber, Hirschfelt, Alexander und David bewiesen. Doch handelte es sich wahrscheinlich um wenig gesalzene Waaren, wie Bückling etc, und sie sind auch Ausnahmefälle. Für den Menschen kann man wohl annehmen, dass die stärker gesalzenen Fischconserven völlig unschädlich sind, wie die Erfahrung lehrt.

Um die Wirkung der Zersetzungsproducte auf Meerschweinchen zu prüfen, wurde folgender Versuch gemacht. Von einer 30 Tage alten Fischprobe mit 15proc. Kochsalz wurden 2 g mit 6 ccm sterilem destillirten Wasser zerrieben und centrifugirt. Von der Flüssigkeit, die reichlich Mikroben enthielt, wurden 3 ccm einem Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Ein zweites Meerschweinchen bekam ebenso viel auf dieselbe Weise von Fleisch hergestellte Flüssigkeit und ein drittes als Controle 3 ccm sterile 4proc. Kochsalzlösung. Alle Thiere waren nach der Injection munter und zeigten keine Krankheitserscheinungen während der Beobachtungszeit, die nach einem Monate beendigt wurde. Die Proben enthielten keine für Meerschweinchen pathogene Keime oder giftige Substanzen. Dadurch ist selbstverständlich nicht bewiesen, dass solche überhaupt nicht vorkommen. Diese Versuche wurden nicht fortgesetzt. Verschiedene Thierspecies reagiren gegen ein Bacteriengift, z. B. gegen das Botulismusgift, höchst verschieden. Es ist nicht ausgeschlossen,

dass andere Thiere weniger unempfindlich sind. Bei den Schweinen gibt es auch wirkliche Vergiftungsfälle mit Häringslake, die vielleicht beweisen können, dass von den in stark concentrirter Salzlösung vegetirenden Organismen giftige Substanzen abgesondert werden. Zwei von Ebner[1]) mitgetheilte Fälle seien kurz angeführt.

Der erste Fall betraf einen Bestand von 30 Schweinen verschiedenen Alters. Sie sollten mit dem Abendfutter 10 l Häringslake bekommen. Diese Menge wurde indessen mit dem Futter nicht gleichmässig gemischt, und die zuerst gefütterten Schweine erhielten wahrscheinlich den grössten Theil der Lake. Den nächsten Morgen Früh zeigten neun von den zuerst gefütterten Thieren ein auffallend verändertes Benehmen. Die sieben am schwersten erkrankten vermochten sich kaum aufzurichten, ihr Gang war schwerfällig, schwankend und taumelnd. Der ganze Körper zitterte heftig, während ununterbrochene Kaubewegungen ausgeführt wurden. Von Zeit zu Zeit wurde der ganze Körper von heftigen Muskelkrämpfen erschüttert. Noch im Laufe desselben Tages verendeten sieben Schweine unter zunehmender Athemnoth und Erscheinungen allgemeiner Lähmung.

Der zweite Fall betraf elf Schweine, die unbestimmte Mengen Häringslake bekommen hatten. Am 3. Tage erkrankten neun und innerhalb 2 Tagen starben sechs; die übrigen genasen. Die hauptsächlichsten Krankheitserscheinungen waren quälender Durst bei gänzlichem Futterlustmangel, hartnäckige Verstopfung, periodische Krampfanfälle mit starkem Geifern, starkes Muskelzittern und Kaukrämpfe mit Zähneknirschen. Bei einzelnen Schweinen setzten von Zeit zu Zeit heftige Wuthanfälle ein, während welcher die Thiere besinnungslos gegen die Wand anrannten und laut schreiend an derselben in die Höhe zu steigen suchten. Später folgte Lähmung des Hintertheils, röchelndes Athmen und Tod durch Herzlähmung.

Die Section der verendeten Schweine ergab übereinstimmend: hochgradige venöse Stauung in sämmtlichen Organen, besonders

1) Ebner, A., Zwei Fälle von Vergiftungen mit Häringslake bei Schweinen. Deutsche thierärztl. Wochenschr., 1897.

in der Lunge und der Leber. Blut theerartig, nicht geronnen, auch nicht im Herzen; Herzkammern stark erweitert und prall, mit Blut erfüllt; Herzmuskel ausserordentlich schlaff, Schnittfläche grauroth, fettig, glänzend.

Als Ursache dieser schweren Erkrankungen müssen toxische Substanzen der Häringslake angesehen werden. Unter den Vergiftungen durch Nahrungsmittel bietet der sog. Botulismus ein sehr charakteristisches Krankheitsbild, das wesentlich aus einem neuroparalytischen Symptomencomplex mit Secretionsstörungen und symmetrischen partiellen oder totalen motorischen Lähmungen besteht. Die Erscheinungen, Veränderung der Schleimabsonderung des Mundes und Rachens, externe und interne Ophthalmoplegie, Aphagie, Aphonie, Obstipation, Urinretention, Athmungs- und Herzstörungen, hängen wahrscheinlich von Läsionen des Centralnervensystems ab.

Der kürzlich entdeckte Erreger des Botulismus ist ein Saprophyt, der sich nach der Schlachtung in dem Fleische ansiedelt und in keiner Beziehung zu den Krankheiten der Schlachtthiere steht. Es ist auch nicht undenkbar, dass er auch im Fisch gedeihen kann, wenn dieser nicht zu stark gesalzen ist. Wie früher erwähnt wurde, hört sein Wachsthum bei 6 proc. Kochsalz auf. Das Gift der Häringslake muss dagegen von Mikrococcen erzeugt sein, weil wegen der Concentration der Lake nur Coccen weiter kommen. Interessant ist, dass das Gift in seinen physiologischen Wirkungen mit dem von Bacillus botulinus erzeugten gewisse Aehnlichkeiten bietet. Leider ist die Krankheitsgeschichte nicht sehr vollständig, und besonders fehlen Angaben über Pupillenweite und Augenbewegungen. Jedenfalls ist eine Aehnlichkeit mit dem Krankheitsbild beim Botulismus unbestreitbar, wenn auch anfangs irritative Erscheinungen mehr hervortretend waren als beim Botulismus gewöhnlich ist.

Die Landwirthe, deren Thiere zu Grunde gingen, hatten die Gewohnheit, den Schweinen Häringslake als futterlusterregendes Mittel zu verabreichen, und diese Vergiftungsfälle rührten daher, dass die Thiere zufälliger Weise grössere Mengen als gewöhnlich erhalten hatten. Es liegt kein Grund vor anzunehmen, dass

diese Häringslaken besondere Eigenschaften besessen haben müssen. Wahrscheinlich wird man sich nicht irren, wenn man annimmt, dass in Häringslake, wenigstens für gewisse Thiere, giftige Producte in sehr kleinen Mengen stets vorkommen.

Wenn in der stark salzhaltigen Häringslake giftige Stoffe producirt werden können, so müssen solche in dem gewöhnlich nicht halb so stark gesalzenen Pökelfleische, wo die Mikrobienvegetation sehr bedeutend ausgiebiger ist, noch leichter entstehen. Nach Stadler[1]) »wird in der Praxis beim Pökeln Kochsalz in Lösungen von ungefähr 6 bis 8% und weniger herab angewandt«. Der Salzgehalt ist oft nicht so gross, dass das Fleisch vor Fäulnis sicher geschützt ist, wenn es längere Zeit aufbewahrt wird. Nun gibt es, wie bekannt, eine Krankheit, den Skorbut, zu dessen Ausbruch unter anderen Ursachen der Genuss von verdorbenen Nahrungsmitteln als Grund angegeben wird. Als besonders unheilvoll gilt das lange Verzehren alten Pökelfleisches. Nach einigen Forschern ist die Ursache dieser Skorbutfälle, welche durch Pökelfleisch hervorgerufen sein sollen, in einem abnormen Reichthum des Blutes an Kochsalz, nach anderen im Mangel an kohlensaurem Kali desselben zu suchen. Keine von diesen Anschauungen ist genügend bestätigt worden. Mir scheint es viel wahrscheinlicher, dass gerade die Stoffwechselproducte der im alten, oft sehr schlecht conservirten Pökelfleische vegetirenden Organismen das krankheitsbringende Agens sind. Es wäre geradezu sonderbar, wenn durch mehrere Monate täglich derartige Stoffwechselproducte von Mikroorganismen ohne Unbehagen verzehrt werden könnten. Die anatomischen Veränderungen bei dieser Krankheit sind ausser den Blutungen nach Leven fettige Degenerationen der Muskeln und der inneren Organe. Dieselben Veränderungen beobachtet man bei mehreren akuten Intoxicationen, aber auch bei chronischen. Bei chronischen Vergiftungen mit Benzol sind Blutungen der Haut und der Muskeln, Fettdegeneration der Nieren, der Leber und des Gefässendothels die hauptsächlichsten

1) Stadler, E., a. a. O., S. 43.

Befunde.[1]) Skorbut ähnelt unzweifelhaft einer chronischen Vergiftung. An eine solche zu denken, hatte man früher kaum Veranlassung, und man glaubte eher an eine Infection, die aber auch nie bewiesen wurde. Selbstverständlich sind experimentelle Untersuchungen nöthig, um diese Annahme einer Intoxication zu beweisen. Die angeführten Umstände reichen hin, um den Weg zu zeigen der zur Aufhellung der Aetiologie des Skorbutes einzuschlagen wäre.

V. Ueber einige Fischconserven.

Um die Frage zu entscheiden, ob in den gewöhnlichen Fischconserven eine ausgiebige Vegetation von niedrigen Organismen und eine wesentliche Veränderung des Präparates überhaupt stattfinden kann, ist es nöthig den Salzgehalt der Conserven zu kennen. Da es mit Schwierigkeiten verbunden war, von den Productionsorten exacte Aufschlüsse zu verschaffen, wie viel Salz den verschiedenen Präparaten zugesetzt wird, so wurde ein anderes Verfahren benützt, um zu diesem Ziel zu gelangen. Von Strömling wurden in der vorher beschriebenen Weise Proben mit 8 bis 23% Kochsalz bereitet, und nachdem sie eine Woche alt waren, nach welcher Zeit das Kochsalz in den Proben sich gleichmässig vertheilt hatte, wurde der Kochsalzgehalt der Lake durch Titriren nach Mohr's Methode bestimmt. Mit den so erhaltenen Zahlen wurden die Titrirresultate der Lake verschiedener Conserven verglichen, woraus auf den Procentgehalt dieser Präparate, auf die ganze Masse berechnet, geschlossen werden konnte. Der Procentgehalt Salz der Lake ist selbstverständlich grösser als der der ganzen Masse, aber das Verhältnis liess sich a priori kaum bestimmen, zumal Angaben über den Wassergehalt des von Abfall freien frischen Fisches fehlen. Wenn man annimmt, dass das zugegebene Salz gleichmässig auf die ganze Wassermenge des Fisches vertheilt sei, so stimmen die als Procentgehalt der Lake bekommenen Zahlen bis zu 23,6% mit einem Wassergehalt von 80%. Die Zahl 25,7 fordert einen Procentgehalt Wasser des

1) Siehe Santesson, C. G., Ueber chronische Vergiftungen mit Steinkohlentheerbenzin. Archiv f. Hygiene, Bd. XXXI, 1897, S. 336.

Fisches von 85,6, wenn man annimmt, dass das Salz vollständig gelöst ist. Dieser Wassergehalt scheint aber zu gross zu sein, und es ist nicht unwahrscheinlich, dass eine kleine Menge Salz dem Fisch ungelöst anhaften kann. (S. nebenstehende Tabelle.)

Die Salzmenge des Härings kann sich also auf 20 bis 21%, des Strömlings auf 20, der Sardellen auf 22, des Matjeshärings auf 11 bis 12, der Anjovis auf ungefähr 10, des Appetithärings etwa 12 und des Sauerströmlings auf 8 bis 9% belaufen. Nur Sardellen enthalten also so viel Kochsalz, als gelöst werden kann. Die Titrirresultate auf Häringslake stimmen mit denen von Wehmer[1]) gut überein, und grössere Schwankungen des Salzgehaltes kommen wahrscheinlich nicht vor.

Diese Conserven sind in zwei Gruppen zu theilen. Die eine umfasst Häring, Strömling und Sardellen, bei deren Herstellung nur darauf Rücksicht genommen wird, dass das Rohmaterial längere Zeit hindurch in einer von dem frischen Zustande möglichst wenig abweichenden Form aufbewahrt werden kann. Man

	Procentgehalt Kochsalz																									
	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23										
der ganzen Probe	10	11	12,2	13,7	15,1	16,6	17,8	19,2	20	21,3	22,1	23,6	24,5	25,4	25,7	25,9										
der Lake der Probe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24,8	—	—	—										
der gewöhnlichen Häringslake	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24,2	—	—	—										
der Strömlingslake	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25,7	—										
der Lake von holländ. Sardellen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—										
der Lake vom Matjesháring	—	—	—	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—										
der Anjovislake	—	—	11,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—										
der Lake vom norweg. Appetitháring aus Stavanger	—	—	—	—	15,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—										
der Sauerströmlingslake	—	10,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—										

1) Wehmer, a. a. O.

verfolgt also den Zweck, soviel als möglich jede Veränderung zu verhindern, und deshalb wird gewöhnlich fast so viel Salz zugesetzt, als sich überhaupt lösen kann, weil man durch die Erfahrung gelernt hat, dass eine wesentlich kleinere Menge gegen Zersetzungen nicht sicher schützt. Wie wir früher gesehen haben, ist bei einem Salzgehalt von ca. 20% die Mikrobienvegetation auch ziemlich bescheiden im Vergleiche zu den niedrigen Concentrationsgraden.

Der anderen Gruppe gehören an: Anjovis, Appetithäring, Matjeshäring und der im nördlichen Schweden allgemein verwendete Sauerströmling. Diese enthalten alle so wenig Salz, dass durch dieses eine bedeutendere Hemmung der Vegetation von Organismen und speciell auch von Stäbchen nicht stattfinden kann. Appetithäringe möglicher Weise ausgenommen sind sie gerade unterhalb der Grenze, wo die Fäulnis aufhört. Bei ihrer Bereitung wird durch eine, jeder Conserve eigenartige Behandlung, bei der ausser dem Salze bisweilen auch Gewürze zugegeben werden, ein von dem frischen Fische wesentlich abweichendes Präparat hergestellt, dessen Geschmack, Geruch, Consistenz und Farbe specifisch sind. Man beabsichtigt also, eine Veränderung in bestimmter Richtung hervorzurufen, über deren Natur noch sehr wenig bekannt ist. Allen gemeinsam ist, dass die Conserve nicht gleich fertig wird, sondern einige Zeit gelagert werden muss, und wenigstens für Sauerströmling sind dabei grössere Temperaturschwankungen zu vermeiden. Ist die Lagerung nicht gelungen, so bekommt das Präparat nicht die richtige Beschaffenheit. Das Verfahren ähnelt in dieser Beziehung dem Reifungsprocesse des Käses. Offenbar ist es erfahrungsgemäss nöthig, um Präparate von der gewünschten Beschaffenheit zu erhalten, den Salzgehalt, der immer innerhalb der ziemlich engen Grenzen von ca. 9 bis 13% wechselt, derart niedrig zu halten. Wenn es gelänge, diese Conserven mit höherem Salzgehalt herzustellen, wäre das sicher schon längst geschehen, weil es bekannt ist, dass mehrere von ihnen gerade wegen der geringen Menge Salz keine grosse Haltbarkeit besitzen. Uebrigens kann die Bereitung, wenigstens was Sauerströmling betrifft,

misslingen, wobei statt des gewünschten Präparates eine faulige Masse entsteht.

Fasst man alles dieses zusammen, so muss man zu der Ueberzeugung kommen, dass das Hauptmoment bei der Fabrication dieser Präparate ein biologischer Process ist, der am ehesten mit dem der Käsereifung verglichen werden könnte, und dass der Salzgehalt so gewählt ist, dass er eine ausgiebige Mikroorganismenvegetation gestattet, ohne dass jedoch Fäulnis eintritt. Man dürfte sich wohl nicht irren, wenn man annimmt, dass der Salzzusatz hier eine ähnliche Rolle spielt wie die Entfernung des Wassers durch Pressen bei der Käsebereitung, nämlich verhindert, dass das Material der stinkenden Fäulnis direct anheimfällt.

Proben von Anjovis und ähnlichen Conserven, wie Appetithäring u. a., enthalten immer reichlich Coccen, wogegen Stäbchen und Hefepilze vermisst werden. Wahrscheinlich ist der Zusatz von Gewürzen mit den antiseptisch wirksamen ätherischen Oelen die Ursache der Abwesenheit von Stäbchen. Angeblich soll der Anjovis auch Borsäure zugesetzt werden. Kam in den von mir untersuchten Proben überhaupt Borsäure vor, so war ihre Menge sicher unbedeutend, weil, wie später erwiesen wird, schon ein Gehalt von 1% Borsäure allein die Entwickelung von Coccen völlig hindert.

Matjeshäring und Sauerströmling enthalten keine Gewürze. In Deckglaspräparaten von der Lake findet man nebst Coccen immer sehr reichlich Stäbchen. Besonders im Matjeshäring haben die Stäbchen bisweilen überall ein so ähnliches Aussehen, dass man eine Reincultur einer Art zu sehen glaubt. Die Stäbchen sind ziemlich dick, theils kurz, theils länger, oft gekrümmt und mit kolbig angeschwollenen Enden.

Da der Sauerströmling durch die Untersuchungen von Mörner[1]) das einzige genauer bekannte Präparat ist und ausserdem ein durch seinen Geruch sehr charakteristisches Product, das Methylmerkaptan enthält, lag es nahe, gerade diese Conserve

1) Mörner, C. Th., Zeitschr. f. physiologische Chemie, Bd. XXII, 1897.

zu einer Untersuchung heranzuziehen. Ich habe auch eine grössere Menge Versuche mit mehrfach variirten Nährböden anaërob und aërob angestellt, um aus dieser Conserve ein Stäbchen zu bekommen, das Methylmerkaptan bildet. Alle Versuche sind jedoch bisher misslungen. Möglicher Weise ist das Methylmerkaptan das Product einer Symbiose mehrerer Organismen. Jedenfalls ist es nicht sehr wahrscheinlich, dass der Bildner des Methylmerkaptans dieses Präparates ein Anaërobier sein soll, obwohl die Merkaptanbildung gerade den obligat anaëroben Arten eigen ist. Wie früher erwähnt, scheint nämlich das Fortkommen dieser Gruppe von Organismen bei einem Salzgehalt von 8% ausgeschlossen zu sein.

Aus Matjesharing habe ich neulich auf 5proc. Kochsalzgelatine ein Stäbchen isolirt, das in Präparaten aus Culturen in Salzbouillon den erwähnten Stäbchen der Lake sehr ähnlich ist. Das nähere Studium dieser Art steht noch aus.

VI. Conservirungsversuche mit Salpeter, Borsäure und Borax.

Da das Kochsalz keine unbedingt befriedigende entwickelungshemmende Wirkung auf niedrige Organismen besitzt, wäre es gewiss rathsam, sie durch Zusatz anderer Mittel zu verstärken. In dieser Meinung wurden auch Salpeter, Borsäure und Borax in Untersuchung genommen.

Salpeter.

Weil der Kalisalpeter bei dem gewöhnlichen Pökelprocesse fast immer benützt wird, wurden damit Versuche zuerst angestellt. Die Menge, welche in der Praxis beim Einpökeln zugesetzt wird, ist willkürlich, aber nicht sehr gross. Wahrscheinlich überschreitet sie nicht 0,5%. Nothwang[1]) fand höchstens 0,32% Salpeter in den von ihm untersuchten Waaren. Es war zu untersuchen, ob dieses Salz fäulnishemmende Eigenschaften besitzt, welche denen des Kochsalzes überlegen oder gleichwerthig seien. Von Fisch und Fleisch wurden also auf die

1) Nothwang, Fr., a. a. O., S. 127.

früher beschriebene Weise Proben mit 5, 10 und 15% Kalisalpeter verfertigt und bei + 25°C. aufbewahrt. Dabei hat sich ergeben, dass von einer conservirenden Wirkung nicht die Rede sein konnte. Auch die Proben mit 15% Salpeter wurden nach kurzer Zeit missfarbig und übelriechend.

Wie Petri und Maassen[1]) nachgewiesen haben, wirkt die Anwesenheit von Salpeter störend auf die Schwefelwasserstoffbildung aus dem Eiweiss. In den erwähnten Proben mit Salpeter fand auch während der ganzen Beobachtungszeit, die aber nur 3 Wochen dauerte, keine Schwefelwasserstoffbildung statt. Wurde dagegen nur 1% Salpeter zugesetzt, so begann sie schon nach 2 Tagen.

Um zu entscheiden, ob vielleicht kleinere Mengen Salpeter, die für sich allein eine sofortige Schwefelwasserstoffbildung nicht hindern, zusammen mit Kochsalz dieselbe zu verzögern oder zu verhindern im Stande sind — auf welche Weise eventuell die conservirende Kraft des Kochsalzes erhöht werden könnte —, wurden Fleischproben mit 5% Kochsalz und 0,5% Kalisalpeter genau wie früher hergestellt, aufbewahrt und untersucht.

20. Versuch.

5% Kochsalz und 0,5% Kalisalpeter. 2 Tage. Die Farbe hell rothbraun. In Deckglaspräparaten reichlich Coccen und Stäbchen. Nitrit ist mit Jodkaliumstärkekleister und Schwefelsäure nachzuweisen. (Eine kleine Menge von der Probe wurde mit Wasser zerrieben und filtrirt. Mit dem Filtrate wurde die Reaction ausgeführt. Filtrat von Controlproben, versetzt mit Salpeter, gab negativen Ausfall der Reaction.) 10 Tage. Reaction sauer. 14 Tage. Reaction neutral. 20 Tage. Ammoniak wird entwickelt. 30 Tage. Die Farbe wie früher; nur die oberste Schicht ist ein wenig dunkler. Geruch unangenehm. Auf der Oberfläche dickes Häutchen von Coccen, Stäbchen, Hefe- und Schimmelpilzen. Die Masse enthält reichlich Gasblasen. 35 Tage. Schwefelwasserstoffprobe die ganze Zeit negativ ausgefallen. (In Controlproben mit nur 5% Kochsalz wurde schon am 4. Tag Schwefelwasserstoff nachgewiesen; in einer Probe mit nur 0,25% Kalinitrat fand keine Schwefelwasserstoffbildung statt.)

Offenbar ist mit Salpeter und Kochsalz ein besseres Resultat zu erzielen als mit Kochsalz allein insofern, als die Entwickelung

1) Petri, R. J. und Maassen, A., Beiträge zur Biologie der krankheitserregenden Bacterien etc. Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amte, Bd. VIII, S. 345.

von Schwefelwasserstoff lange Zeit verhindert wird. Salpeter verbessert also im Gegensatz zu den gewöhnlichen Ansichten[1]) die Conservirung mit Kochsalz, ohne dass davon grosse Mengen nöthig sind. Auch wenn man mit Petri und Maassen die Entwickelung des Schwefelwasserstoffs aus Eiweiss durch Einwirkung von Wasserstoff im Entstehungszustande auf den locker gebundenen Schwefel annehmen würde und die H_2S-Bildung als keine sehr eingreifende Veränderung ansieht, muss jedenfalls die Verhinderung des Auftretens dieses Stoffwechselproductes werthvoll sein. Ob dagegen Salpeter auf die Zersetzung in anderen Beziehungen hemmend einwirke, habe ich in Fleischproben leider nicht untersuchen können. Jedenfalls waren die Proben nach 30 Tagen, obwohl die Farbe sehr schön war und die Schwefelwasserstoffbildung völlig unterdrückt wurde, nicht gut conservirt, sondern hatten einen sehr unangenehmen Geruch.

Schon am zweiten Tag wurde Nitrit nachgewiesen. Die Reduction des Salpeters beginnt also gleich am Anfange. Dass aus dem Salpeter auch Ammoniak gebildet wird, ist nicht zu bezweifeln. Der Nachweis desselben ist aber dadurch erschwert, dass auch ohne Salpeter in allen Proben grosse Mengen von Ammoniak entstehen. Gerade in den Proben mit Salpeter scheint die Entwickelung von Ammoniak anfangs ein wenig vermindert zu sein. Später wird sie sehr reichlich. Dass die Salpetermenge in der Pökellake vermindert wird, ist schon von Polenske[2]) beobachtet und auf die Thätigkeit von Mikroorganismen zurückgeführt worden. Nothwang[3]) bestreitet auf Grund seiner Versuche diese Anschauung. Er beobachtete nie alkalische Reaction der Lake, und Probe auf salpetrige Säure war immer negativ ausgefallen. Nichts destoweniger fand auch er in einer Versuchsserie eine stetige Verminderung des Salpetergehalts. Meine Versuche sprechen für eine Zersetzung des Salpeters und stützen also Polenske's Anschauung.

1) Siehe z. B. Stadler, a. a. O., S. 43.

2) Polenske, cit. nach Nothwang.

3) Nothwang, Fr., a. a. O., S. 137.

Borsäure.

Obgleich Borsäure in mehreren Ländern als Conservirungsmittel gesetzlich verboten ist, wurden doch damit Versuche angestellt, um die conservirende Kraft des Kochsalzes mit der eines schwachen, bekannten Antisepticums vergleichen zu können. Auch wurde berücksichtigt, dass, wenn Borsäure sich als vorzügliches Conservirungsmittel bewähren würde, sie vielleicht in irgend einer Weise Verwendung finden könnte. Natürlicher Weise müsste sie später aus dem Präparate vollständig entfernt werden können.

I. Fisch.

21. Versuch.

2% Borsäure. 2 Tage. Lake ist gebildet, die Probe hat unangenehmen, nicht faulen Geruch; keine Mikroorganismen. 5 Tage. Die Oberfläche von Schimmel bedeckt. 30 Tage. Keine anderen Organismen als Schimmelpilze. Die oberen Theile der Probe unter dem Schimmelhäutchen sind gelb gefärbt und in eine dickflüssige Masse verwandelt. Beim Umrühren mit Wasser entsteht ein dicker Brei.

22. Versuch.

4% Borsäure. 2 Tage. Reichlich Lake, der Geruch unangenehm wie bei der vorigen Probe. 30 Tage. Keine Mikroorganismen in Deckglastrockenpräparaten. Bei Zusetzen von Wasser und Umrühren zertheilt sich auch diese Probe ziemlich leicht.

II. Fleisch.

23. Versuch.

2% Borsäure. 4 Tage. Die Fleischmasse fest, Lake ist nicht gebildet. Auf der Oberfläche reichlich grosse, grauweisse Colonien eines Sprosspilzes, welcher auch sehr reichlich in den tieferen Theilen vorkommt. 10 Tage. Die Oberfläche von Schimmel völlig bedeckt. 30 Tage. Andere Organismen als Hefe und Schimmel kommen nicht vor. Die oberen Theile der Probe unter dem Schimmelhäutchen sind in eine flüssige Masse verwandelt.

24. Versuch.

5% Borsäure. 4 Tage. Keine Lake, die Oberfläche schwach grau missfarbig. Präparate von der Oberfläche und aus der Tiefe enthalten beide reichlich Hefezellen. 30 Tage. Nur Hefe kommt vor, aber diese äusserst zahlreich; der Geruch unangenehm; Probe auf Pepton negativ, wogegen Tyrosin ziemlich reichlich nachzuweisen ist.

Zwischen den in diesen Proben und in den mit Kochsalz gefundenen Hefepilzen habe ich keine deutlichen Unterschiede

gefunden, und wahrscheinlich sind sie identisch, nach den wenigen positiven Charakteren, die zu finden waren, zu urtheilen.

Der Unterschied in der conservirenden Wirkung des Kochsalzes und der Borsäure ist sehr deutlich. Während das Kochsalz auch bei ziemlich hohen Concentrationen ein ausgiebiges Wachsthum von Coccen und Stäbchen gestattet, treten die Schimmelpilze entschieden zurück, und reichlichere Sprosspilzvegetation kommt nur bei bestimmten Concentrationsgraden vor. Borsäure hemmt dagegen die Entwickelung der Spaltpilze, aber lässt Schimmel- und Sprosspilze, wenigstens im Fleische gut weiter kommen. Die antiseptische Eigenschaft der Borsäure ungerechnet, kommt hiebei wahrscheinlich in Betracht, dass eine sauere Reaction des Nährbodens das Wachsthum der beiden letzten begünstigt, das der Spaltpilze aber hemmt.

Borsäure ist für Fisch und Fleisch ein ganz ungeeignetes Conservirungsmittel. In höherer Concentration werden Fische zwar von Zersetzung durch Organismen bewahrt, anstatt dessen aber scheint die Borsäure selber eine auflösende Einwirkung auf den Fisch zu üben, so dass er beim Umrühren mit Wasser theilweise zerfällt. Dieses Verhalten schliesst ihre praktische Anwendung völlig aus, denn die einzige Möglichkeit für ihre Benützung wäre, dass sie aus der fertigen Conserve sich auswässern liesse. Was das Fleisch betrifft, fällt freilich diese Schwierigkeit weg, dagegen aber übt die Borsäure so geringe hemmende Einwirkung auf die Hefe, dass diese sehr rasch wachsen kann und auch eine nicht unbedeutende Zersetzung mit Bildung reichlicher Mengen Tyrosin hervorzurufen im Stande ist.

Borax.

I. Fisch.

25. Versuch.

1% Borax. Die Probe sehr fest, ohne Lake; die Fischstücke mit einander stark verklebt. Reaction schwach alkalisch. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten sehr reichlich ziemlich lange, schlanke Stäbchen, wenige Coccen. 6 Tage. Die Probe weicher als anfangs, übelriechend. Auf der Oberfläche Schimmel. Deckglastrockenpräparate zeigen fast nur Stäbchen, alle ungefähr gleich gross. 8 Tage. Ammoniak wird entwickelt. Schwefelwasserstoffprobe negativ. 14 Tage. Schwefelwasserstoffentwickelung. 30 Tage.

Die Probe ist sehr weich, enthält Gasblasen und stinkt intensiv. Geruch nach Buttersäure kann deutlich unterschieden werden. Auf der Oberfläche ein dickes Häutchen von Stäbchen. Deckglastrockenpräparate zeigen reichlich Stäbchen mit mittel- oder fast mittelständigen Sporen. Auch Coccen. Indol Spuren. Auf aëroben Platten gehen diese sporenbildenden Stäbchen nicht auf. Eine kleine Menge aus der Probe wird mit sterilem Wasser bei + 80° C. 10 Minuten erwärmt und danach Culturen in Nikiforoff'schen Röhrchen angelegt. In diesen ist aus den Sporen ein Stäbchen ausgewachsen, das sich bei späteren Züchtungen als obligat anaërob erwiesen hat.

26. Versuch.

2% Borax. 4 Tage. Keine Mikroorganismen. 6 Tage. Wenige Coccen in Deckglastrockenpräparaten. 14 Tage. Consistenz wie zu Anfang, Geruch leicht ranzig. Auf der Oberfläche mässig reichlich gelbe Colonien von Coccen. 60 Tage. Consistenz und Geruch wie früher. Die oberste Schicht gelb gefärbt, die übrige Masse hell rosa. Präparate von der Oberfläche enthalten ziemlich reichlich Coccen, von der Tiefe nur wenige.

27. Versuch.

3% Borax. Gewöhnlich tritt kein Wachsthum ein, nur einzelne Proben zeigten nach kurzer Zeit wenige Coccen, aber diese Vegetation verschwand bald wieder.

II. Fleisch.

28. Versuch.

1% Borax. Fleischmasse braunroth, fest, ohne Lake, stark zusammenhängend, wie verkittet. Reaction schwach sauer. 2 Tage. In Deckglastrockenpräparaten mässig reichlich Hefen, wenige Stäbchen und Coccen. 4 Tage. Auf der Oberfläche Colonien von Schimmelpilzen und Coccen. Schimmelgeruch. Reaction alkalisch. Deckglastrockenpräparate aus der Tiefe enthalten fast nur Stäbchen, nach Gram nicht färbbar, und dem Ansehen nach alle gleich. Auf aërober Agarplatte gehen nur Stäbchen einer Art auf, die mit Bacterium fluorescens liquefaciens Flügge völlig übereinstimmt. 6 Tage. Die ganze Oberfläche völlig bedeckt mit Schimmel. Die Reaction alkalisch; Ammoniak wird entwickelt. 11 Tage. Geruch unangenehm. Starke Schwefelwasserstoffreaction. Deckglaspräparate zeigen äusserst zahlreiche Stäbchen, die nach Gram gefärbt werden, aber nur wenige, die sich nach dieser Methode nicht färben. Die ersteren sind ziemlich lang und plump und tragen oft Sporen, die gewöhnlich mittel-, seltener endständig sind. Liegt die Spore in der Mitte, so hat das Stäbchen ausgeprägte Clostridiumform. Durch das früher angegebene Verfahren wurde es rein gezüchtet und als obligat anaërob erkannt. 17 Tage. Die Probe sehr weich, graugrün. In Deckglastrockenpräparaten nebst den früher erwähnten Stäbchen reichlich auch Coccen, theils in Ketten, theils unregelmässig angeordnet. 30 Tage. Die Fleischmasse halbflüssig, riecht intensiv übel, fäkal. Die Coccen sind zahlreicher als früher und auch zahlreicher als die Stäbchen. Das Destillat, das auch höchst übelriechend ist, enthält Buttersäure und Spuren von Indol, aber kein Phenol.

29. Versuch.

2% Borax. Reaction anfangs alkalisch. 10 Tage. Keine Organismen in Deckglaspräparaten. 16 Tage. Oberfläche mit Schimmel bedeckt. 40 Tage. Keine anderen Mikroorganismen als Schimmel. Die oberste Schicht der Probe ist in eine flüssige Masse zerlegt. 50 Tage. Mässig reichlich Coccen, sehr wenige Stäbchen, Spuren von Pepton.

30. Versuch.

3% Borax. Nach 50 Tagen waren keine anderen Organismen zu finden als einige Schimmelcolonien auf der Oberfläche.

Borax, der doch ein ziemlich wenig giftiger Stoff ist, besitzt nichts destoweniger eine bedeutend hemmende Einwirkung auf das Wachsthum der niedrigen Organismen. Er ist nicht nur dem Kochsalz, sondern in gewisser Beziehung auch der Borsäure überlegen. Es ist dies umsomehr beachtenswerth, als es bekannt ist, dass Borax gegen Bacterien nur eine sehr unbedeutende antiseptische Kraft hat. Wenn Kochsalz in einer Concentration von 20% und Borsäure, was Fleisch betrifft, von 4% eine genügende Hemmung der Organismenvegetation hervorrufen, tritt eine solche schon bei 3% Borax ein. Am wenigsten empfindlich gegen Borax sind Schimmelpilze. Dass auch diese im Stande sind, ziemlich grosse Zersetzungen hervorzubringen, zeigt Probe Nr. 28. In der Conservirungspraxis spielen sie freilich gewöhnlich keine grosse Rolle, aber das beruht darauf, dass sie entweder bei geeigneter Reaction von Spaltpilzen überwachsen werden, oder, selbst wenn sie weiter kommen, nur auf der Oberfläche gedeihen. Dagegen bieten, im Gegensatz zu dem, was bei dem Kochsalze der Fall ist, die Coccen keine ausgeprägte grössere Resistenz als die Stäbchen, und beide treten auch so ziemlich gleichzeitig auf. Auch das Wachsthum der obligat anaëroben Organismen erfährt keine solche Hemmung wie sie durch Kochsalz hervorgebracht wird. Die Zerlegung des Eiweisses in Proben mit 1% Borax wird sicherlich hauptsächlich durch obligate Anaërobien hervorgebracht, welche, so bald der Sauerstoff des Nährbodens durch die Aërobien verzehrt ist, auftreten. Das in den Fleischproben fast allein gefundene aërobe Stäbchen, Bacillus fluorescens liquefaciens, bildet kein Indol, und die Bildung dieses Products muss der Arbeit des anaëroben Stäbchens

zugeschrieben werden. Auch deutet der viel ekelhaftere Geruch, den die Boraxproben haben, und wie ihn die Proben mit 5% Kochsalz nie entwickelten, darauf hin, dass der Zersetzungsprocess ein ganz anderer ist.

Wenn Borax sich also als ein gutes bacterienhemmendes Mittel bewährt hat, war weiter zu untersuchen, ob es möglich wäre, durch Zusatz von kleineren Mengen davon zu Kochsalz erheblich bessere Resultate zu erzielen als mit Kochsalz allein. Deshalb wurden Proben mit 5 und 8% Kochsalz und 1 bzw. 0,5% Borax für jede verfertigt und unter denselben Bedingungen wie die vorigen beobachtet.

I. Fisch.

31. Versuch.

5% Kochsalz und 1% Borax. Probe fest, ohne Lake. 3 Tage. Wenige Coccen. Auf der Oberfläche punktförmige Colonien. 8 Tage. Ammoniakentwickelung. 14 Tage. Die Oberfläche mit einem dicken Häutchen von Schimmel bedeckt. 25 Tage. Nur Coccen, aber reichlich. Die oberste Schicht unter dem Schimmel aufgelöst. 45 Tage. Die Probe halbflüssig, übelriechend. Ziemlich reichlich auch Stäbchen. Starke Schwefelwasserstoffentwickelung. Spuren von Indol.

32. Versuch.

8% Kochsalz und 1% Borax. 3 Tage. Coccen. 14 Tage. Häutchen von Schimmel. Ammoniakentwickelung. 45 Tage.[1]) Flüssigkeit ist gebildet, die oberste Schichte sehr weich, Geruch nicht unangenehm. Keine Stäbchen. Kein Schwefelwasserstoff.

II. Fleisch.

33. Versuch.

5% Kochsalz und 1% Borax. Probe fest, dunkel rothbraun, keine Lake. 2 Tage. In Deckglaspräparaten Coccen. 6 Tage. Auf der Oberfläche reichlich Colonien von Coccen nebst einigen von Schimmel. 12 Tage. Ammoniak wird entwickelt. Die Oberfläche völlig bedeckt mit Schimmel. 30 Tage. Das Fleisch unter dem dicken Schimmelhäutchen wird langsam in eine halbflüssige Masse verwandelt. 60 Tage. Nur Coccen. 75 Tage. Die Verflüssigung des Fleisches weiter geschritten. Geruch nicht unangenehm. Reichlich Coccen, einzelne Stäbchen. Kein Schwefelwasserstoff.

Einleuchtend ist, dass durch Zusatz von Borax eine bedeutend bessere Conservirung zu Wege gebracht wurde als durch

1) Infolge äusserer Umstände war es nicht möglich, die Beobachtungszeit für diese und einige folgenden Proben bis zu 75 Tagen auszudehnen.

Kochsalz allein. Man vergleiche die Proben 1, 2 und 9 mit diesen letzten. Die Erhöhung der conservirenden Kraft ist in Bezug auf Fleisch viel grösser als für Fisch, und dieses Resultat müsste gerade als ein sehr gutes bezeichnet werden, wenn man bedenkt, dass in Fleischproben mit nur 5% Kochsalz allein Schwefelwasserstoff schon nach 6 und Indol nach 26 Tagen nachzuweisen war. Hier war während der ganzen Beobachtungszeit Schwefelwasserstoff nicht zu constatiren, obwohl er am Ende derselben wahrscheinlich nicht mehr lange auf sich hätte warten lassen, da in Deckglaspräparaten schon Stäbchen zu finden waren. Bei Fisch hat Borax einen viel geringeren Effect hervorgerufen. Jedenfalls ist auch für Fleisch die Conservirung keine ideale; denn nach Wegfall der concurrirenden Bacterienvegetation entwickeln sich die gegen Borax widerstandsfähigeren Schimmelpilze und zersetzen das Material, wenn auch der übelriechende Schwefelwasserstoff und Indol dabei nicht gebildet werden.

Weitere Versuche mit kleineren Mengen Borax gaben folgende Resultate.

I. Fisch.

34. Versuch.

8% Kochsalz und 0,5% Borax. 16 Tage. Nur Coccen und Schimmel. 26 Tage. Die oberste Schicht sehr weich, wenige Stäbchen. Schwefelwasserstoff wird entwickelt. 40 Tage. Die Probe noch weicher, übelriechend. Spuren von Indol, kein Phenol.

II. Fleisch.

35. Versuch.

5% Kochsalz und 0,5% Borax. 4 Tage. Nur Coccen. 6 Tage. Auch einzelne Stäbchen. Die Oberfläche mit Schimmel ganz bedeckt. 8 Tage. Schwache Ammoniakentwickelung. 18 Tage. Schwefelwasserstoffprobe positiv. 30 Tage. Fleischmasse graugrün, sehr weich, übelriechend. Starke Indolreaction, kein Phenol.

36. Versuch.

8% Kochsalz und 0,5% Borax. 18 Tage. Die Oberfläche von einem dünnen Schimmelhäutchen bedeckt. In Deckglaspräparaten nur Coccen. 24 Tage. Sehr wenige Stäbchen. 40 Tage. Die Probe fest, ohne Lake, gut conservirt, von hell rothbrauner Farbe und nicht unangenehmem Geruch. Das Fleisch unter der dünnen Schimmelschicht nicht aufgelöst. Ziemlich reichlich Stäbchen. Kein Schwefelwasserstoff.

Nimmt man die Boraxmenge so klein als 0,5%, so ist es, um ein gutes Resultat zu erzielen, nöthig, auch für Fleisch den Salzgehalt bis zu 8% zu steigern. Dadurch aber ist auch eine wesentliche Verbesserung zu Stande gebracht, und das Fleisch ist nach 40 Tagen damit sicher besser conservirt als mit 10% Salz allein, wie die Probe Nr. 11 deutlich zeigt. Durch den höheren Salzgehalt ist auch die Schimmelvegetation herabgedrückt. Betreffend Fisch bringt offenbar 0,5% Borax bei einem Salzgehalt von 8% keine befriedigende Verbesserung der Conservirung hervor. Eine Erhöhung des Kochsalzgehalts um 2% gibt ein besseres Resultat als Zusatz von 0,5% Borax. In den Proben mit 10% Kochsalz war Indol erst nach 68 Tagen nachzuweisen, trat aber in der Probe mit 8% Kochsalz und 0,5% Borax schon am vierzigsten Tage auf. Uebrigens geht auch aus diesen Versuchen hervor, dass für die Conservirung von Fisch ein grösserer Gehalt der Conservirungsmittel als für Fleisch nöthig ist.

Es dürfte nicht aussichtslos erscheinen, durch Zusatz irgend eines unschädlichen Salzes ein erheblich besseres Resultat der Conservirung mit Kochsalz zu erzielen. Schon die Anwendung des Salpeters muss als eine Verbesserung des Pökelprocesses angesehen werden, wenn der Salzgehalt unter 10% sich befindet. Indessen scheint Borax in gewissen Beziehungen besser zu sein, und vielleicht besitzen andere Stoffe noch grössere Vorzüge. Borax muss nämlich andersartig als Salpeter wirken, weil auch geringe Mengen Borax eine vollständige Hemmung der Vegetation von Mikroorganismen hervorbringen, während Salpeter nichts derartiges bewirkt.

VII. Zusammenfassung.

Das Kochsalz ist mit unseren gewöhnlichen fäulniswidrigen Mitteln, die bereits in verdünnten Lösungen wirksam sind, nicht vergleichbar. Stärkere wachsthumshemmende Wirkungen sind erst dann zu erzielen, wenn der Salzgehalt ungefähr so viel beträgt, als das Rohmaterial lösen kann, d. h. ungefähr 20 bis 23%.

Das Kochsalz wirkt nicht auf alle Organismen in demselben Grade hemmend ein, sondern darin sind deutliche Unterschiede

zu finden. Im allgemeinen sind diejenigen am empfindlichsten, welche tiefgehende Zersetzungen des Eiweisses hervorrufen.

Wenn die Concentration in den Rohmaterialien bis zu 5% hinaufreicht, hindert das Kochsalz das Fortkommen obligater Anaërobien. Bei einem Gehalt von über 5% findet man nur facultativ anaërobe und aërobe Arten.

In Bezug auf die zwei grossen Gruppen, Coccen und Stäbchen, sind die letzteren, auf welche die intensiveren Zersetzungsprocesse und besonders die sog. Fäulnis zurückzuführen sind, weit empfindlicher als die Coccen.

Innerhalb der Gruppen, Stäbchen und Coccen, gilt die allgemeine Regel, dass die Arten, welche tiefergehende Zersetzungen hervorrufen, gegen Kochsalz empfindlicher sind.

Im allgemeinen wird das Wachsthum der Stäbchen durch 10% Kochsalz aufgehoben, einige aber vertragen bis zu 12% und in Reincultur in Bouillon bisweilen sogar 15%.

Die meisten Coccen gedeihen noch bei einem Salzgehalt von 15% sehr gut, und in Fisch- und Fleischpräparaten zeigt bei diesem Salzgehalt auch eine Hefe die ausgiebigste Vegetation.

Gegenüber gewissen Organismen scheint Kochsalz schon bei einer Concentration, bei der die Vermehrung noch lebhaft ist, bereits eine Verminderung der Umsetzungen des Conservematerials hervorzurufen.

Die Hauptmomente der Wirksamkeit des Kochsalzes als Conservirungsmittel sind also: allgemeine Verlangsamung der Vermehrung der Organismen, Hemmung der kräftiger eiweisszersetzenden schon bei einem verhältnismässig niedrigen Salzgehalte und in Bezug auf gewisse Mikroben auch Herabsetzung ihrer chemischen Leistungen.

Die in gesalzenen Waaren vegetirenden Keime sind wahrscheinlich auch im Stande, kleine Mengen giftiger Producte zu bilden. Vermuthlich sind aber nicht alle Thiere gegen diese Gifte empfindlich, und gewöhnlich werden auch von den disponirten Thieren keine so grossen Mengen verzehrt, dass erhebliche Giftwirkungen auftreten.

Auf die Eigenschaft des Kochsalzes, vorzugsweise die Organismen zu hemmen, welche eine tiefgehende Zerstörung des Eiweisses hervorbringen, ist die Fabrikation mehrerer Fischconserven basirt. Bei ihrer Darstellung wird die möglichst kleinste Menge Salz, welche gerade noch Fäulnis verhindern kann, zugesetzt. Diese hindert aber nicht eine ausgiebige Vegetation nicht fäulniserregender Organismen, wodurch dann der Fisch in Bezug auf Aussehen, Geruch und Geschmack in gewünschter Richtung verändert wird.

Salpeter hebt in Vereinigung mit Kochsalz auch in kleineren Mengen die Schwefelwasserstoffbildung längere Zeit völlig auf, und dessen Gebrauch bei dem Pökelprocesse muss also als wirklich vortheilhaft angesehen werden.

Borsäure bewährt gegenüber Stäbchen und Coccen ihren alten Ruf als gutes fäulnishemmendes Mittel; das Wachsthum der Hefe aber hemmt sie im Fleisch nicht, und eine Zersetzung des Fleisches findet auch bei ihrer Anwendung in nicht geringem Grade statt.

Borax ist ein sehr wirksames, wachsthumhemmendes Mittel; auch in kleineren Mengen bringt er, mit Kochsalz gemischt, eine auffallende Verbesserung der Conservirung von Fleisch hervor. Die Nebenwirkungen empfehlen aber Borsäure und Borax nicht als Zusatz.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Hueppe für die Unterstützung und das stetige Interesse bei Ausführung dieser Arbeit meinen innigsten Dank auszusprechen. Herrn Professor Dr. Sundberg, in dessen Institut zu Upsala einige Vorversuche und ergänzende Arbeiten ausgeführt sind, und Herrn Professor Dr. C. Th. Mörner, der mir mit mehreren guten Rathschlägen beigestanden hat, möchte ich ebenfalls herzlichst danken.